610
Sa3m
v. 7
no. 2

ACTA SALMANTICENSIA
IVSSV SENATVS VNIVERSITATIS EDITA

LUIS SANTOS GUTIERREZ

EN TORNO AL RIGOR EN LAS DESCRIPCIONES MORFOLOGICAS

UNIVERSITY OF ILLINOIS
MAY 15 1963
LIBRARY

Medicina

Tomo VII, núm. 2

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

1962

ACTA SALMANTICENSIA

(COLECCION DE MEMORIAS Y TRABAJOS CIENTIFICOS EDITADOS POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA)

SERIE DE MEDICINA

Tomo I, núm. 1. Tomás de Juan Rodríguez: *La tromboflebitis en la angina de Ludwig*, 70 páginas, 3 láminas, 1945.

Tomo I, núm. 2. Joseph Schumacher: *Die "Theoria" der griechischantiken Denker und ihr Einfluss auf die spätere Forschung*, 16 páginas, 1945.

Tomo I, núm. 3. Julio Peláez Redondo: *Patología funcional del sistema linfático*, 84 páginas, 1946.

Tomo I, núm. 4. A. Alvarez Morujo: *Evolución, forma y función de las trabéculas óseas*, 34 páginas, 52 figuras, 1947.

Tomo I, núm. 5. A. Alvarez Morujo: *Morfología de la dinámica arterial*, 16 páginas, 12 figuras, 1952.

Tomo I, núm. 6. Luis S. Granjel: *La Medicina y los médicos en las obras de Torres Villarroel*, 84 páginas, 1952.

Tomo I, núm. 7. A. Juanes González: *Valor clínico de la fotocolorimetría de la orina*, 62 páginas, 19 figuras, 1952.

Tomo II, núm. 1. Luis S. Granjel: *Aspectos médicos de la literatura antisupersticiosa española de los siglos XVI y XVII*, 74 páginas, 1953.

Tomo II, núm. 2. José María Beltrán de Heredia: *Estudio clínico de la eficacia de los distintos tipos de anastomosis de los sistemas porta y cava en el tratamiento de la hipertensión portal*, 54 páginas, 1954.

Tomo II, núm. 3. Isidro Aguilar Rodríguez: *Estudio médico del flúor*. 84 páginas, 17 figuras. 1955.

Tomo III. *Actas y comunicaciones del VII Congreso de la Sociedad Luso-Hispano-Americana de Anatomía, XV Reuniao da Sociedade Anatomica Portuguesa* (Salamanca, 9-12 abril 1953). Vol. I: 212 páginas. 1955. Vol. II: 242 páginas. 1955.

Tomo IV, núm. 1. Hilario García Gómez: *Estructura y función de la aponeurosis dorsal de los dedos de la mano*. 60 páginas. 1956.

Tomo IV, núm. 2. F. Rodríguez Adrados: *La radiografía del oído en incidencia transorbitaria*.

Tomo IV, núm. 3. L. Gómez Oliveros: *Veins of the lungs*. 282 páginas texto, 30 láminas color. 1959.

Tomo V. *Congreso Nacional de Oto-Rino-Laringología*. 1957.

Tomo VI. *Actas del V Congreso Nacional de Alergia*. 1960.

Tomo VII, núm. 1. Luis S. Granjel y M.ª Teresa Santander Rodríguez: *Indice de Médicos Españoles*. 112 páginas. 1962.

Tomo VII, núm. 2. Luis Santos Gutiérrez: *En torno al rigor en las descripciones Morfológicas*. 20 páginas, 1962.

INTER-CAMPUS BORROWING

1. This material has been borrowed from the Urbana campus of the University of Illinois.

2. There is generally a 3-5 day delivery period from the time the material leaves Urbana until the time you receive it. This delay is part of your loan period.

3. You may renew materials by calling any one of the following:

Urbana	(217)333-8400
Chicago Circle	(312)996-2724
Chicago Med Center	(312)996-8963
Peoria Med Center	(309)671-3095
Rockford Med Center	(815)987-7710
Urbana Med Center	(217)333-8400

4. Return all material borrowed from another campus to the Circulation Desk of your home library. You should allow 3 days of your loan period for the return delivery.

5. Please help the Library recycle the padded envelope by returning it with the book.

EN TORNO AL RIGOR EN LAS DESCRIPCIONES MORFOLOGICAS

ACTA SALMANTICENSIA
IVSSV SENATVS VNIVERSITATIS EDITA

LUIS SANTOS GUTIERREZ

EN TORNO AL RIGOR EN LAS DESCRIPCIONES MORFOLOGICAS

Medicina
Tomo VII, núm. 2

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
1962

Depósito Legal: S. 104 - 1962

N.º Registro: SA. 245 - 1962

Talleres Gráficos de Librería Cervantes.—Rda. Sti. Spíritus, 9.—Salamanca

Parece sobrante repetir ahora que el espíritu de rigor, indispensable en cualquier tipo de expresión científica, no puede estar ausente de las elaboraciones anatómicas. La índole esencialmente morfológica de la Anatomía, con la objetividad aplastante de sus datos que se ofrecen sin ambages, conduce facilmente a una claudicación del rigor cuando se trata de la exposición oral o escrita de los mismos. El rigor en el cotejo de los datos, en su sistematización y exposición, el encadenamiento lógico de las ideas y la imparcialidad en la valoración o crítica de los testimonios, constituyen el todo en el modo de hacer filológico. Sin rigor, la Filología se habría esterilizado en lo inconsistente de las posiblemente infinitas consideraciones subjetivas.

A primera vista parece que el hecho morfológico, que se impone con la inexorable lógica de la objetividad, trasciende al rigor. La Anatomía como antifilología se elabora precisamente sobre ese hecho morfológico; la Filología descansa en el rigor de la apreciación y exposición de unos hechos que se dan muchas veces separados en la cronología, otras con carácter fragmentario, y siempre sujetos a una valoración individual.

Pero lo rotundo del hecho anatómico no excluye (no debe excluir) una descripción cuidadosamente rigurosa; y omitir este detalle conduce indefectiblemente si no al error, sí al menos al confusionismo.

Ocurre sin embargo que en muchos capítulos de la Anatomía o en la relación concreta de muchos tipos de hechos, se arrastran desde siempre imprecisiones que no pueden menos de chocar cuando se analizan con un espíritu un poco riguroso.

Este chocar de la imprecisión anatómica con el rigor del espíritu inquieto, no es nuevo. Y no lo es menos en España donde, desde el Renacimiento, el quehacer de los médicos morfólogos ha contado en mayor o menor medida en la elaboración del saber anatómico. A mediados del siglo XVI, Bernardino Montaña de Monserrate[1] fue el primer médico español que escribió en castellano un libro de anatomía; cinco años más tarde Juan de Valverde de Amusco, en su importante Tratado[2], le supera aún en codicia de precisión. Y resalta precisamente la coincidencia de ambos en el interés por el establecimiento de un léxico perfilador de exactitudes y de errores.

Imbuido de un espíritu galénico Montaña, y decisivamente influenciado por el saber de Vesalio (en sí mismo no exento de galenismo) Valverde, ambos utilizan, expresadas en el romance del XVI, las primeras nóminas anatómicas, como base de la descripción del caudal científico de la época, y de

---

[1] Montaña de Monserrate, B. 1551. *Libro de la Anatomía del hombre.* Valladolid.

[2] Valverde de Amusco, J. 1556. *Historia de la composición del cuerpo humano.* Roma.

cuyo jugoso comentario se ha ocupado más extensamenta Valle-Inclán[3]. El interés de este autor por lo que el rigor debe representar en la expresión anatómica, se trasluce en los párrafos finales de su monografía: "El lenguaje científico, repetimos una vez más, requiere, sobre todo, precisión, condición dificilísima de lograr cuando, como en el caso de Valverde, se escribe esforzándose en emplear constantemente el mismo lenguaje que se habla.

Para que las haga suyas Valverde parece que fueron escritas aquellas palabras de Juan Valdés: El estilo que tengo me es natural, y sin afectación ninguna escribo como hablo; solamente tengo cuidado de usar vocablos que signifiquen bien lo que quiero decir, y dígolo cuanto más llanamente puedo". Una prueba más de tal interés la da al ocuparse más tarde precisamente de Porras y Martín Martínez[4], quienes, con Montaña y Valverde, representan el grupo de los primitivos morfólogos preocupados por la pureza del léxico anatómico.

Más recientemente, y con un pensamiento más afín al nuestro, Lorenzo Boscasa[5] arremete contra las impropiedades no ya sólo de la terminología en castellano, sino de la expresión conceptual en sí. Boscasa, a cuya obra anatómica ha dedicado López Piñero[6] una interesante monografía, considera como primordial el papel que, en la corrupción del lenguaje anatómico, jugaron las apresuradas traduciones de libros franceses realizados durante la primera mitad del siglo XIX.

La influencia de Boscasa, en la reivindicación tanto de la rigurosidad terminológica como de la propiedad en la expresión, fue decisiva. No se puede intentar nada, en relación con cuestiones de lenguaje anatómico, sin contar con la obra de Boscasa. Como señala acertadamente López Piñero, la huella de Boscasa se deja sentir con toda su fuerza en D. Julián Calleja[7], autor del más importante y difundido tratado de Anatomía de la segunda mitad del XIX.

En la actualidad, Laín Entralgo, preocupado de la puesta a punto de infinidad de aspectos del saber científico, no ha podido resistir a la consideración de los problemas que plantea el rigor en la expresión. Hay un artículo suyo[8], no extenso, en el que abordando el tema mucho más ambicioso del lenguaje médico en general, toca a menudo pormenores de índole puramente morfo-

---

[3] VALLE-INCLÁN, C. del. 1949. *El léxico anatómico de Bernardino Montaña de Monsarrete y de Juan de Valverde.* Arch. de Hist. de la Med. I.: (121-188).

[4] VALLE-INCLÁN, C. del. 1952. *El Léxico anatómico de Porras y Martín Martínez* Arch. Iberoam. de Hist. de la Med. IV: 141-228.

[5] BOSCASA, L. 1844. *Tratado de Anatomía general, descriptiva y topográfica.* 2 Vol. Madrid.

[6] LÓPEZ PIÑERO, J. M. 1960. *La Obra Anatómica de Lorenzo Boscasa. Est. de Hist. de la Med. Espań.* (nueva Serie) Tomo II. n.º 6.

[7] CALLEJA Y SÁNCHEZ, J. 1901. *Compendio de anatomía descriptiva y de embriología humanas.* 4.ª Edic. 2 vols. Madrid.

[8] LAÍN ENTRALGO, P. 1957. *Patología del lenguaje médico.* Medicamenta XXVI: 391-95.

lógica; así cuando se ocupa del género de término "dermis", de la precisión de los "anatómico" o "anatomista", de la ortografía de "chiridia", de la traducción de "goutière" o "reservoire", de la inexactitud en el empleo, en singular, de la expresión túbuli contórti, o de la versión al castellano, en su exacto sentido de los vocablos alemanes "Gestalt" y "Anlage".

Muchas veces, a lo largo de toda la obra de Laín, se deja traslucir su atracción por las cuestiones morfológicas. Como cuando nos deja el apunte de unas cuantas ideas clave sobre las que construir una Historia de la Anatomía[9], donde entre otros, es considerado concretamente el tema "Modos de saber y de expresar lo sabido".

En su artículo "Patología del lenguaje médico"[10] justifica con las siguientes palabras su postura de removedor de inquietudes acerca del rigor en la expresión: "Por qué no someter a diagnóstico riguroso los diversos padecimientos específicos de nuestra expresión verbal, como previo expediente de una posible enmienda? Poco puede perderse con intentarlo". Aunque refiriéndose exclusivamente a los aspectos lexicológicos que derivan de la introducción de neologismos, Laín da, unas líneas antes, con la clave de la cuestión, al decir: "El problema consiste, claro está, en que el neologismo sea correcto y necesario, lo cual acaecerá cuando su invención no haya incurrido en uno de estos cuatro vicios: el pleonasmo, la incorrección, la confusión y la fealdad". Nosotros suscribimos estas palabras, como convenientes no sólo a la "patología" de la terminología médica, sino a cualquier cuestión de rigor descriptivo.

Así, vamos a considerar a continuación alguno de los puntos que más nos llamaron la atención a este respecto a lo largo de ya bastantes años de aprendizaje y enseñanza de la morfología.

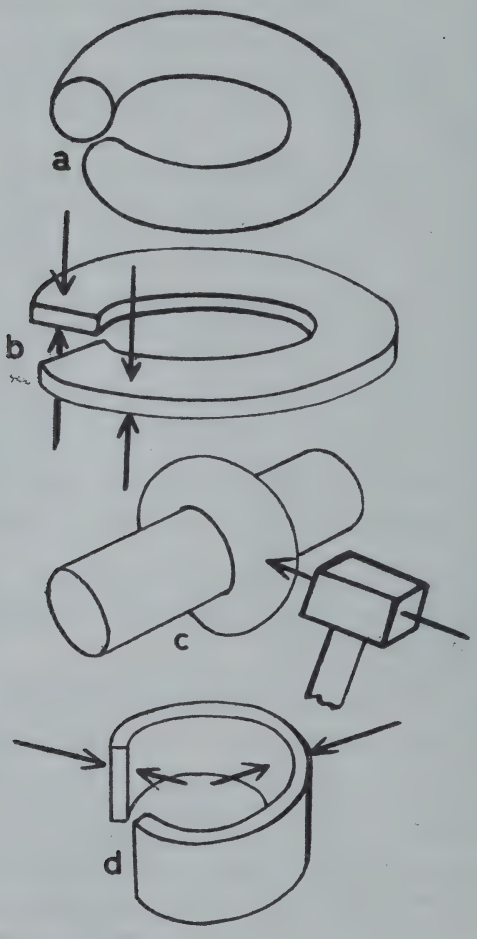
Una cuestión que constantemente se deja en el aire de la imprecisión es la referente al sentido de aplanamiento radial de muchos elementos anatómicos anulares o arciformes. Efectivamente, el anillo cricoideo, los cartílagos traqueales, el cuerpo de la mandíbula, el arcus de las vértebras torácicas, las costillas, etc., etc., aparecen aplanados en sentido radial. Pero en ninguno de los tratados de Anatomía que han estado o están en vigor (y sea cualquiera su nacionalidad) se precisa este detalle que es condición necesaria en rigor, y suficiente dentro de su simplicidad, para la descripción morfológica correcta de los elementos en cuestión. Se dice por el contrario, por ejemplo, que el cuerpo de la mandíbula tiene forma de herradura, lo cual es sencillamente inexacto. Y esto sí que se dice sistemáticamente, desde siempre, en todos los textos anatómicos, cualquiera que sea su procedencia. Pero una herradura es morfológicamente a modo de un arco parabólico (de ramas más cerradas) aplanado por acciones que han obrado según una dirección perpendicular a

---

[9] LAÍN ENTRALGO, P. 1949. *Conceptos fundamentales para una historia de la Anatomía.* Archv. Iberoam. de Hist. de la Med. Vol I: 419-23.

[10] LAÍN ENTRALGO, P. Patología... (8) pág. 391.

su plano. El cuerpo de la mandíbula tiene en cambio la forma de un arco parabólico paro aplanado radialmente. La homologación morfológica, pues, no es válida. La expresión o descripción del hecho anatómico no es rigurosa. Aclaremos. Si se tiene una vulgar argolla (aro de sección circular, Fig. a.)



de material moldeable, apoyada sobre una superficie plana, o lo que es lo mismo, "a plano" sobre un área de sustentación, y se golpea o aplasta sobre tal plano de sustentación, se obtendrá un aro o anillo aplanado con la forma de una arandela (Fig. b.). En tal caso, las fuerzas que han producido el aplanamiento del anillo obraron según una dirección ortogonal o perpendicular a su propio plano, por lo que al deformarse, la argolla se extendió también en el sentido de su plano (como ocurre concretamente en el caso de la herradura). De esta forma, si se supone la primitiva argolla dispuesta en un plano hori-

zontal, resultará tras su aplastamiento una arandela aplanada de arriba abajo, con su plano de extensión por lo tanto también horizontal.

Por su proceso morfogenético esencialmente distinto, si se golpea exteriormente en sentido radial sobre la argolla moldeable ensartada justamente en una barra maciza y rígida (Fig. c) se obtendrá al fin un anillo aplanado radialmente (Fig. d) es decir un corto manguito cilíndrico. En este elemental ejemplo radica la esencia de lo que representa un aplanamiento en sentido radial.

Ahora bien, lo que más atrás se ha dicho a propósito del aro o anillo completo tiene validez para arcos o segmentos de anillo, que pueden en consecuencia ofrecerse tambien aplanados, ya radialmente, ya por acciones que obraron según una dirección ortogonal a su propio plano.

Se comprende así ahora lo certeramente expresiva de una descripción del cuerpo de la mandíbula, o del anillo cricoideo, o de las costillas etc., etc., al decir de ellas que aparecen aplanadas en sentido radial.

Como una consecuencia de este modo de estar radialmente aplanados ciertos elementos anatómicos, se deriva la disposición característica de las dos caras de que aparecen dotados por el hecho de tal aplanamiento. Evidentemente, en todo manguito cilíndrico (como en cualquier arco o segmento de un tal) una de las caras es exterior y convexa y la otra interior y cóncava. Nunca se recalcará lo suficiente a propósito de la atinada precisión de los términos "exterior" e "interior" aplicados en este sentido. Cuando así se hace, la descripción es válida sea cualquiera el punto o territorio considerado en una u otra de las caras del elemento anatómico aplanado en sentido radial.

Por el contrario, es frecuente leer descripciones anatómicas en las que la cara interior, cóncava, de un elemento aplanado radialmente, es especificada como interna y la exterior como externa. Y ocurre que, si bien idiomáticamente dichos términos pueden ser recíprocamente homologables, en el caso concreto de las referencias anatómicas tal homologación lleva facilmente a errores conceptuales por imprecisión en la expresión.

Efectivamente, los términos interno y externo (o sus correspondientes en los distintos idiomas) son utilizados en la expresión habitual (naturalmente no en la nómina anatómica) como sinónimos de medial y lateral respectivamente. Y ello no sólo en las anatomías francesas, más frecuentemente seguidas en España en las décadas precedentes; Braus[11] en su texto dice a propósito de la tibia: "Das Schienbein liegt so oberflächlich, dass es mit seiner Innenfläche unmittelbar die Haut berührt"; el mismo Braus[12] en la Fig. 368 de la 3.ª edición de su texto representa la "Innenfläche des Unterkiefers". Emplea así el mismo término "cara interna" (Innenfläche) referido a la cara medial de la tibia y a la superficie "interior" del cuerpo de la mandíbula. Es-

[11] BRAUS, H. 1954. *Anatomie des Menschen. Bd. I. Dritte Auflage.* Springer Ver. pág. 542.

[12] BRAUS, H. Op. cit. pág. 708.

ta imprecisión concretamente se da y acepta de ordinario en todas las escuelas anatómicas. Sin embargo, por su orientación, el área mental de la cara interior del cuerpo mandibular no es interna (en el sentido expresado para la tibia) sino posterior. La no consideración del aplanamiento en sentido radial del cuerpo de la mandíbula, con la secuencia del empleo de los términos exterior e interior para designar las superficies resultantes, ha conducido al confusionismo.

La misma omisión ha llevado a Bourgery (autor de un tratado de Anatomía[13] difícilmente superado en lo puramente morfológico) a considerar en el cuerpo de la mandíbula una cara anterior y una posterior con evidente impropiedad; o a Romiti[14] a describir las costillas (en realidad arcos aplanados en sentido radial) como dotados de dos caras, medial y lateral respectivamente, siendo así que, por ejemplo, la que él llama cara medial, se hace anterior en el tercio dorsal del arco costal.

Frente a tales incorrecciones de expresión, los términos exterior e interior, sistemáticamente válidos, tienen idéntico sentido que los de "envolvente" y "envuelto" de la matemática, y están dotados de una significación tan precisa que en modo alguno puede ser objeto de encontradas interpretaciones.

En última instancia cabe considerar también la pared de los conductos cilindroideos de los aparatos viscerales, como ejemplo característico de elemento anatómico aplanado radialmente; por eso se debe preconizar asimismo el empleo de los términos exterior e interior en la referencia a las superficies convexa y cóncava respectivamente, habitualmente denominadas externa e interna de la pared de las cavidades viscerales.

Y la inexactitud puede llegar a ser más ostentosa si se emplea para tal referencia los términos superficial y profundo respectivamente. Entendemos que no debieran utilizarse nunca tales términos aplicados a los diferentes estratos de la pared de una cavidad anatómica sin la previa referencia del sentido (centrífugo o centrípeto) según el que ha de llevarse a cabo la consideración de los distintos planos.

La mucosa, y concretamente el epitelio limitante con la luz visceral, puede ser considerado como el elemento más superficial en relación con el mundo interior. Así se dice que un ulcus gástrico es tanto más profundo cuanto más se acerca al estrato seroso. Por el contrario, cuando se aborda la víscera desde el exterior, en la sección consecutiva de los distintos planos de su pared, parece evidente que lo más superficial es lo más directamente accesible, es decir, el estrato adventicial o seroso en su caso.

Por no haber tenido en cuenta este detalle, omitiendo la referencia previa al sentido de la consideración de los estratos, en algunas descripciones de la retina se ha inducido a un error de concepto. No puede dejar de tenerse en

---

[13] Bourgery et C. Bernard. 1866-67. *Traité complet de l' Anatomie de l' homme. T. I.* p. 88 Guérin Edit. París.

[14] Romiti, G. 1903. *Anatomia dell'uomo.* Vol. I pág. 227 Villardi ed. Milano.

cuenta que el aprendiz —quien retiene de inmediato que los conos y bastones representan el elemento receptor— se sitúa intuitivamente en el interior del globo ocular. Para él lo más superficial de la retina es el estrato a donde la luz llega directamente (que es lo más interior respecto a la pared de la cámara óptica). Desde tal referencia, pensando en la retina como lámina estratificada y considerando el sentido de llegada de la luz, tiende lógicamente a homologarse lo superficial con lo externo, y así al asimilar la descripción va edificando un concepto falso. Concibe los conos y bastones orientados hacia el interior del globo ocular para captar directamente la luz; concibe asimismo la limitante externa vecina a lo que, para él, es el estrato más superficial de la retina, y la interna hacia la profundidad en el mismo sentido; concibe en definitiva una retina "invertida" respecto a su disposición real. Yendo más lejos, podría afirmarse que la retina está en realidad invertida respecto a lo que la intuición y la lógica pudieran hacer pensar al hilo de ciertas descripciones imprecisas; y la luz ha de atravesar todas las capas de una retina transparente e "invertida" antes de impresionar los receptores, situados a nivel de su estrato más profundo, hecha la consideración en sentido centrífugo al analizar la pared de la esfera ocular.

Otro aspecto descriptivo riguroso y eficaz, al que no se recurre en todos los casos en que puede tener aplicación, es el referente no al aplanamiento, sino a la simple disposición radial de muchos elementos anatómicos.

Así en el sistema referencial sobre el que se elabora la organización cortical de la laminilla cerebelosa, se parte, desde Golgi[15] y Cajal[16], de la característica disposición de las células de Purkinje, en torno a las que se monta todo el complejo estructural. En casi todas las descripciones, se adolece de precisión al no especificar la trayectoria radial del eje celular respecto a la superficie (que no es plana sino alabeada) de la laminilla.

Si los morfólogos hubiesen hecho la descripción con el riguroso espíritu de la matemática, no podrían haber dejado de tener en cuenta que la célula de Purkinje, por su especial conformación posee un eje de simetría y dos planos de simetría entre sí ortogonales según tal eje, por lo que para su definición posicional no basta con las dos características clásicamente referidas sino que se requieren tres. Así mientras de ordinario, para tal definición posicional se concretan tan sólo dos condiciones: a) polo dendrítico de la célula orientado hacia la superficie de la laminilla y b) plano de arborización dendrítica colocado transversalmente a la dirección de la laminilla, en rigor es todavía necesaria la referencia a la disposición radial del eje de la célula de Purkinje.

Llama la atención sin embargo que, en la iconografía de los distintos tratados sobre esta cuestión, las imágenes —que traducen exactamente el hecho

---

[15] Golgi, C. 1886. *Sulla fina anatomia degli organi centrali..., etc. cit.* por Cajal.
[16] Cajal, S. R. 1909. *Histologie du Système Nerveux de l' Homme et des Vertébrés.* Vol. II pág. 8 A. Maloine. París.

anatómico concreto— son correctas, mientras su expresión literal peca de poco rigurosa. La descripción se hace así inteligible a la luz de los esquemas anejos. Es una vez más la comprobación de cómo el hecho morfológico, rotundo, parece trascender al rigor.

Algún detalle de estas últimas ideas nos lleva a la consideración de la cautela con que debe emplearse el término "transversal" como sinónimo de "ortogonal". Cuando se habla concretamente de secciones de elementos longitudinales, el término transversal tiene una significación muy precisa, equivalente a "perpendicular u ortogonal a la dirección de la dimensión preponderante del elemento en cuestión". En este sentido, la expresión de Cajal[17] "plano de arborización dendrítica colocado transversalmente a la dirección de la laminilla" no deja de tener rigor.

Pero no se puede perder de vista que en el capítulo de las referencias espaciales respecto a las que se construyen las descripciones anatómicas, el término "transversal" es convencionalmente aceptado como sinónimo de "latero-lateral".

En consecuencia, vale más ser riguroso y hablar por ejemplo de "sección del muslo por un plano perpendicular a su eje" (en vez de sección transversal), ya que su corte según un plano frontal no deja de ser transversal, con lo que el mismo término conviene a circunstancias de sección distintas induciéndose así al confusionismo.

Una cuestión en la que la imprecisión campea regularmente por muchos de los tratados hoy en boga es la de la descripción de la forma de los elementos anatómicos.

En un trabajo nuestro de hace unos cuantos años, acerca de las cualidades anatómicas elementales, relatábamos: "Expresar la forma de un objeto es pues hacer la descripción de su aspecto o imagen corpórea relacionándolo o comparándolo con el de las unidades ideales de forma representadas por las figuras geométricas". Y más atrás: "Referir la forma es, pues, establecer una relación de identidad o semejanza entre dos imágenes, la del ser u objeto que se describe, y la de un cuerpo geométrico (ideal, general) u otro cuerpo cualquiera (real, concreto), cuyo aspecto se presupone conocido y que sirve de patrón o canon".

Resulta evidente que no puede intentarse la referencia homologológica de las formas sin un conocimiento elemental pero riguroso de las más importantes figuras geométricas. Tener una idea exacta de los diferentes ángulos, polígonos, curvas elementales (circunferencia, elipse, óvalo, hipérbola, parábola) y de las correspondientes superficies generadas en la revolución de las mismas (esfera, elipsoide, ovoide, hiperboloide y parabolóide), poder diferenciar los distintos tipos de paralelogramos, intuir la esencial y abismosa diferencia entre líneas y superficies o volúmenes, saber lo que es un paralelepípedo con

---

[17] CAJAL, Op. cit. pág. 8.

igual seguridad que lo que es un cono, pirámide, prisma o cilindro, etc., etc., etc., son, aunque parezca escandaloso traerlo a colación, premisas indispensables al morfólogo. Lo que verdaderamente escandaliza es que un espíritu genial como H. Braus[18] creador de una anatomía con mucho de personal, tan interesante por su reivindicación funcional, y tan rigurosa en otros aspectos, refiera a propósito de la Articulatio atlantooccipitalis "Man kann sich beide Sandalengelenke als Stücke eines Ovals denken" considerando así los cóndilos occipitales como segmentos de un óvalo único, y equiparando segmentos de una misma superficie alabeada convexa, con una línea cerrada plana, como es el óvalo. Es probable que al relatar tamaña inexactitud pensase en un ovoide. Así lo hace suponer el que, en el mismo párrafo, diga más abajo: "In der Tat funktioniert die Gelenkverbindung zwischen Atlas und Schädel wie ein einziges Ellipsoid— (oder Ei—) gelenk.", ya que, en efecto, al menos etimológicamente, una Eigellenk es una articulación cuyas superficies articulares ofrecen un alabeamiento similar al de la superficie del vulgar huevo de gallina (superficie de revolución generada por rotación de un óvalo alrededor de su eje mayor, con predominio de la dimensión axial del sólido que encierra, y con uno de sus polos más grueso que el opuesto), y que es homologable al ovoide (Ovoid en alemán) de la Geometría. Pero entonces, la contraposición subsiste al equiparar: Eigelenk=Ovoidgelenk, (cierto); Eigelenk = Ellipsoidgelenk, (según afirma literalmente), ergo: Ovoidgelenk = Ellipsoidgelenk, (falso). Desde luego ni analítica ni morfológicamente es homologable un ovoide a un elipsoide (superficie de revolución, generada por rotación de una elipse alrededor de su eje mayor, con predominio de la dimensión axial del sólido que encierra, pero de polos o extremos iguales).

Tal vez el origen de la inexactitud radique en la incorrecta versión al alemán del término elipsoide. Efectivamente, este término se traslada desde el griego (con el significado precisado por Boscasa[19] para "término trasladado") dando Ellipsoid, que a su vez, se sobreañade al término "traducido" Gelenk, para formar Ellipsoidgelenk (articulación elipsoidal). Pero al "verter" al alemán (en el sentido de Boscasa) el mismo término Ellipsoid, para formar el compuesto Eigelenk (articulación en huevo), dado como sinónimo de Ellipsoidgelenk, se comete un error, ya que es inadmisible, desde el punto de vista geométrico, la homologación de los conceptos de ovoide y elipsoide.

Claro que, no ya inadmisible, sino inconcebible parece la confusión de elementos geométricos lineales (curvas de la geometría plana, cónicas) con las superficies alabeadas más elementales (cuádricas) de la geometría del espacio. Sin embargo, tomar lo oval por elíptico (al establecer comparaciones morfológicas), o una elipse por un elipsoide, son faltas ostentosas contra el rigor que se leen de ordinario en una buena parte de los modernos tratados

[18] BRAUS, Op. cit. pág. 108.
[19] BOSCASA, Op. cit. págs. 350-55.

de Anatomía. ¿Qué cabrá esperar de las elucubraciones fisiomatemáticas acerca de los aspectos funcionales de la artromecánica, expuestas por autores incapaces de discriminar ni siquiera los conceptos más elementales?

Menos trascendentes son las imprecisiones que se dan por ejemplo a propósito del empleo de términos, incorrectos por su verdadero significado, pero de los que la rutina se ve incapaz de prescindir.

Así, el uso de "motor" por "efector" en la inervación vegetativa de las glándulas, cuando el efecto secretor, en su esencia, no implica desplazamiento (movimiento) y por consiguiente tampoco motilidad (motricidad.).

O en el empleo pertinaz de la expresión terminológica "terminaciones sensitivas" cuando la polarización dinámica marca un sentido al discurrir de la corriente nerviosa, de forma que el aparato receptor representa en realidad una "extremidad de origen", mientras sólo los efectores tienen verdadera categoría de "terminaciones".

O, finalmente, la aplicación incorrecta de los términos "flexión" y "extensión". Tales términos convienen a la motilidad de segmentos esqueléticos longitudinales (lados de un ángulo) articulados entre sí a nivel de una coyuntura (vértice). En estas condiciones, flexionar vale tanto como cerrar o disminuir la amplitud relativa del ángulo en cuestión, y extender equivale a abrir o aumentar tal valor angular.

Entonces, sólo podrá hablarse de flexión y extensión, sin más, para articulaciones con un solo eje de movimiento (como el codo, la rodilla, o las articulaciones interfalángicas), donde por lo tanto, el cierre o apertura angular se realiza en un solo sentido, es decir, de forma que, a lo largo de toda la posible excursión motriz, los lados del ángulo (estilo y zeugopodo) permanecen en un mismo plano (con la reserva del valgo normal), y en las que particularidades anatómicas imposibilitan lo que, sin rigor, podía llamarse hiperextensión. El término hiperextensión carece de significado; puesto que la extensión o apertura del ángulo, sólo puede ser considerada hasta la postura límite (correspondiente a un valor angular de 180 grados) en la que ambos segmentos esqueléticos aparecen alineados. Prolongar la excursión motriz de apertura, más allá de los 180 grados, es ya flexionar en sentido contrario, o lo que es lo mismo, volver a cerrar el valor angular relativo.

Si a nivel de la rodilla, por ejemplo, fuese posible lograr voluntariamente el "genu recurvatum", los términos flexión y extensión, a secas, carecerían de precisión, siendo necesario en tal caso hablar de anteflexión o retroflexión.

Así, a nivel de la articulación de la muñeca, la especificación de movimientos de flexión dorsal y flexión volar es absolutamente rigurosa; lo mismo que, en rigor, debería decirse flexión medial o aproximación (abducción) y flexión lateral o separación (abducción); pero sin perder de vista que el movimiento que lleva la mano desde la extrema flexión dorsal a la postura en la que los ejes de antebrazo y mano aparecen alineados, no es un movimiento de flexión volar, sino de extensión volar.

Así, es imprecisa la homologación de la anteversión del muslo, con la

flexión, a secas, de la cadera; puesto que, al estar —en la posición tipo de las referencias anatómicas— los ejes del tronco y miembro inferior, aproximadamente alineados, cualquier movimiento desviacional de tal postura tipo será de flexión (exceptuando, naturalmente, la rotación), teniéndose así las posibilidades motrices de anteflexión, retroflexión, flexión medial o aproximación y flexión lateral o separación, más los movimientos combinados.

Así, es incorrecto hablar de flexión dorsal y flexión plantar, a nivel del artículus talus; ya que no pudiendo darse en ningún caso la alineación de los ejes de la pierna y el pie, la impropiamente llamada flexión plantar del pie es siempre, necesariamente, un movimiento de extensión; pudiendo, en cambio, especificarse con todo rigor la llamada flexión dorsal como flexión a secas.

Así, no es riguroso equiparar la simple extensión, sin más, de los dedos (término con un significado muy preciso, condicionado por las particularidades anatómicas de las articulaciones metacarpo-falángicas e interfalángicas) con la mal llamada flexión dorsal de los mismos.

Y hasta aquí, unos cuantos puntos, cuyo desarrollo nos apremiaba desde hace tiempo por lo que considerábamos tenían de incorrecto. Hay muchos más, interesantes, por tratar. Pero el camino del esfuerzo por una mayor precisión en la expresión morfológica, sigue abierto.

610
Sa3m
v.7
no. 3

ACTA SALMANTICENSIA
IVSSV SENATVS VNIVERSITATIS EDITA

TESIS DE MEDICINA

I

EXTRACTOS DE TESIS DOCTORALES
LEÍDAS EN 1962

THE LIBRARY OF
MAY 12 1964
UNIVERSITY OF

Medicina
Tomo VII, núm. 3

SALAMANCA
1963

ACTA SALMANTICENSIA

COLECCION DE MEMORIAS Y TRABAJOS CIENTIFICOS EDITADOS POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

SERIE DE MEDICINA

Tomo I, núm. 1. TOMÁS DE JUAN RODRÍGUEZ: *La tromboflebitis en la angina de Ludwig,* 70 páginas, 3 láminas, 1945.

Tomo I, núm. 2. JOSEPH SCHUMACHER: *Die "Theoria" der griechischantiken Denker und ihr Einfluss auf die spätere Forschung,* 16 páginas, 1945.

Tomo I, núm. 3. JULIO PELÁEZ REDONDO: *Patología funcional del sistema linfático,* 84 páginas, 1946.

Tomo I, núm. 4. A. ALVAREZ MORUJO: *Evolución, forma y función de las trabéculas óseas,* 34 páginas, 52 figuras, 1947.

Tomo I, núm. 5. A. ALVAREZ MORUJO: *Morfología de la dinámica arterial,* 16 páginas, 12 figuras, 1952.

Tomo I, núm. 6. LUIS S. GRANJEL: *La Medicina y los médicos en las obras de Torres Villarroel,* 84 páginas, 1952.

Tomo I, núm. 7. A. JUANES GONZÁLEZ: *Valor clínico de la fotocolorimetría de la orina,* 62 páginas, 19 figuras, 1952.

Tomo II, núm. 1. LUIS S. GRANJEL: *Aspectos médicos de la literatura antisupersticiosa Española de los siglos XVI y XVII,* 74 páginas, 1953.

Tomo II, núm. 2. JOSÉ MARÍA BELTRÁN DE HEREDIA: *Estudio clínico de la eficacia de los distintos tipos de anastomosis de los sistemas porta y cava en el tratamiento de la hipertensión portal,* 54 páginas, 1954.

Tomo II, núm. 3. ISIDRO AGUILAR RODRÍGUEZ: *Estudio médico del flúor.* 84 páginas, 17 figuras, 1955.

Tomo III. *Actas y comunicaciones del VII Congreso de la Sociedad Luso-Hispano-Americana de Anatomia, XV Reuniao da Sociedade Anatomica Portuguesa* (Salamanca, 9-12 abril 1953). Vol. I: 212 páginas. 1955. Vol. II: 242 páginas. 1955.

Tomo IV, núm. 1. HILARIO GARCÍA GÓMEZ: *Estructura y función de la aponeurosis dorsal de los dedos de la mano.* 60 páginas. 1956.

Tomo IV, núm. 2. F. RODRÍGUEZ ADRADOS: *La radiografía del oído en incidencia transorbitaria.*

Tomo IV, núm. 3. L. GÓMEZ OLIVEROS: *Veins of the lungs.* 282 páginas texto, 30 láminas color. 1959.

Tomo V. *Congreso Nacional de Oto-Rino-Laringología.* 1957.

Tomo VI. *Actas del V Congreso Nacional de Alergia.* 1960.

Tomo VII, núm. 1. LUIS S. GRANJEL y M.ª TERESA SANTANDER RODRÍGUEZ: *Indice de Médicos Españoles.* 112 páginas. 1962.

Tomo VII, núm. 2. LUIS SANTOS GUTIÉRREZ: *En torno al rigor en las descripciones morfológicas,* 20 páginas, 1962.

Tomo VII, núm. 3. *Tesis de Medicina I: 1962.* 104 págs. 1963.

TESIS DE MEDICINA

ACTA SALMANTICENSIA
IVSSV SENATVS VNIVERSITATIS EDITA

TESIS DE MEDICINA

I

EXTRACTOS DE TESIS DOCTORALES
LEÍDAS EN 1962

Medicina
Tomo VII, núm. 3

SALAMANCA
1963

Depósito legal: S: 138—1963 N.° Registro: SA—437/63

Industrias Gráficas "DIARIO - DIA", Mayor Principal, 99.—Palencia

INDICE DE TRABAJOS

Páginas

María Antonia García Alvarez: La proteína C reactiva en patología humana 11

Manuel Benito Sendín: Estudios sobre proteínas en glomerulonefritis, insuficiencia cardíaca congestiva y gestación 35

Juan Antonio González Martín: Modificaciones del iris a los estímulos luminosos. Sustancias místicas y midriásicas 55

Luis Muñoz Mateos: Actividad bioeléctrica de la córnea y anestésicos locales 75

LA PROTEÍNA C REACTIVA EN PATOLOGÍA HUMANA

INVESTIGACIONES CLÍNICAS Y HUMORALES

POR

MARIA ANTONIA GARCÍA ALVAREZ

Planteamiento del problema.

Desde el descubrimiento de la Proteína C Reactiva (PCR) por TILLETT y FRANCIS en 1930, son muchos los trabajos llevados a cabo para investigar la naturaleza de esta proteína anormal que se encuentra en el suero de enfermos agudos, que desaparece precozmente en la convalecencia y capaz de producir la precipitación de la "Fracción C" o polisacarido C del neumococo, y que en unos aspectos parece comportarse como un anticuerpo y en otros no.

Con ABERNETHY y AVERY en 1941 se inician los trabajos más interesantes sobre esta sustancia "reactiva", en cuanto que la identifican como una proteína que va asociada a la fracción albúmina del suero, y señalan como característica peculiar la necesidad de la presencia de iones calcio para su precipitación.

MAC LEOD y AVERY en el mismo año logran separar y purificar la PCR del suero previo fraccionamiento salino y dialisis después de la fracción albúmina.

En 1947 MC CARTY consigue aislarla de exudados pleurales y peritoneales y obtenerla cristalizada, y posteriormente en 1954, por técnica modificada la obtienen también cristalizada WOOD, MC CARTY y SLATER.

Si bien por fraccionamiento salino del suero la PCR va asociada con la fracción albúmina (ABERNETHY y AVERY), los análisis electroforéticos de PERLMAN y col. en 1943 la asocian a la alfa globulina; WOOD, MC CARTY y SLATER en 1954, por electroforesis libre, la asocian a la beta globulina y por electroforesis zonal continúa a la gamma; HEDLUND y BRATTSTEN en 1956 también por electroforesis en zona la ligan a la gamma globulina; GAUTIER y SCHEIDEGGER en el mismo año por inmunoelectroforesis la relacionan con la beta globulina; BUSTAMANTE ARIÑO y MANUEL Y PINIES (1957) por inmunoelectroforesis en agar la asocian a la gamma globulina.

Lo que llama la atención en todos estos trabajos es la asociación de la PCR a las distintas fracciones proteicas del suero según los métodos empleados.

Por otra parte, son también muchos los trabajos donde se compara la PCR con otras sustancias de la fase aguda en distintas enfermedades, observándose por lo general un paralelismo en todas ellas, en el sentido de estar aumentadas durante la enfermedad y disminuir hasta normalizarse o desaparecer una vez que la fase aguda ha pasado.

Estas observaciones recogidas en la literatura nos llevaron a profundizar en el estudio de la PCR, iniciando los trabajos con determinaciones clínicas en el momento de su aparición en la enfermedad, en un principio como pruebas de tanteo y orientación, pero intrigándonos en seguida cuál pudiera ser la constitución de esta proteína anormal, y si tendría alguna identidad con otras de las sustancias de la fase aguda posibles de determinar en nuestros medios.

Ante la imposibilidad de obtener PCR purificada y cristalizada, por no estar estas técnicas a nuestro alcance, tuvimos que recurrir a medios indirectos, y así estudiamos su comportamiento en relación con la V. S. G., proteinograma, glicidograma y mucoproteínas, que a la vez nos servía para ver el aspecto clínico de la PCR.

Por otra parte, intentamos estudiar también las características físicas, químicas y electroforéticas de esta proteína, con la casuística y técnicas que indicamos.

Casuística y métodos.

El estudio fue llevado a cabo en un tiempo de tres años en enfermos internados y ambulatorios de la Clínica de Patología General del Prof. Balcells Gorina y también se realizaron exámenes en otros casos pertenecientes a las Clínicas de Patología Médica y Patología Quirúrgica de los Profesores Dr. Querol Navas, Dr. Cuadrado Cabezón y Dr. Moraza Ortega.

En un total de 183 enfermos, se hicieron 249 determinaciones de PCR; 249 de V. S. G.; 249 proteinogramas, expresados en valores absolutos y relativos; 34 glicidogramas, y determinaciones de mucoproteínas expresadas en hexosas —61—, proteínas —62—, y tirosina —62—, además de 64 determinaciones de mucoproteinemia total. Se hicieron también 249 proteínas totales y 69 hexosas totales.

Las determinaciones en sueros normales para pruebas control y curvas patrón, se llevaron a cabo por la donación voluntaria del personal Médico y Auxiliar de la Clínica de Patología General, del Laboratorio de Investigaciones Clínicas, y otros alumnos y alumnas universitarios, de los que no contaban con antecedentes patológicos interesantes ni signos clínicos de enfermedad actual. En 50 sujetos sanos, se practicaron 50 determinaciones de PCR; 20 de V. S. G.; 13 proteinogramas expresados en valores absolutos y relativos, con 13 determinaciones de proteínas totales; 13 glicidogramas; 20 mucoproteinemias totales; y 10 determinaciones de mucoproteínas expresadas en hexosas, 10 expresadas en proteínas y 10 expresadas en tirosina.

Todas las determinaciones, tanto las practicadas en sueros de enfermos como de normales, fueron hechas en las mismas condiciones y con las mismas técnicas.

Para determinación de la PCR seguimos el método de Wood y Mac Carty empleando antisuero de conejo preparado comercialmente por la Casa Schieffelin, y utilizando tubos capilares para la reacción; una vez hecha la mezcla se deja en incubación 2 horas a 37° C y después en nevera de 12-16 horas a 4° C. La lectura se hace midiendo en milímetros la altura del precipitado formado en el capilar, dando por cada milímetro la positividad de +1. Los límites son de +1 a +6 y el límite extremo +7. Los indicios se valoran como +0,5 y las negativas como 0.

Seguimos la misma técnica para las determinaciones de PCR en papilla de órganos y en las determinaciones llevadas a cabo en el estudio experimental. Para la determinación de PCR practicada en medula ósea seguimos el micrométodo de Goldin y Kaplan aplicado por nosotros a medula.

En la V. S. G. seguimos el método de Westergren, empleando citrato sódico al 3,8% conservado estéril y en nevera a 4° C; las lecturas se hacían a la primera y segunda horas.

Las proteínas totales fueron determinadas según la técnica de Gras y Salazar del fraccionamiento salino del suero por el hiposulfito sódico, y calculando la proteinemia total a partir de la lectura de L_{IV} por el factor. La lectura se hace en un fotocolorímetro con filtro verde (longitud de onda 550 milimicras). El factor fue calculado por el cociente de dividir la proteinemia

total de una mezcla de 10 sueros normales, determinada por otra técnica, y la lectura en el fotocolorímetro de la mezcla de los 10 sueros tratados por el hiposulfito al 20%, expresado en D. O. Este factor fue calculado cada vez que se hacía un nuevo reactivo del biuret.

El proteinograma fue hecho sobre tiras de papel Whatman 1, y Schleiche-Schüll, empleando 0,007 ml. de suero tomado con pipeta especial de 0,01 dividida en milésimas y colocado a 10 cm. de distancia de uno de los extremos del papel. Utilizamos un tampón de veronal sódico a pH 8,6 y fuerza iónica 0,1, llevándose a cabo en cubetas de electroforesis Elphor II, conectadas a un rectificador y estabilizador de corriente, manteniendo un voltaje de 110 v., y un tiempo de duración de 12-14 horas. La tinción la hacemos según la técnica de GRASSMANN y HANNING, y la lectura final se hace, previa elución en una solución de carbonato sódico al 5% en alcohol metílico al 50% (método de GRAS), en fotocolorímetro con filtro verde 580 milímicras. Los resultados se expresan en valores absolutos —gr./100 ml.— y relativos —tantos por ciento—.

En el glicidograma seguimos la técnica de MAC MANUS-HOTCHKISS adaptada por KÖI y GRÖNWALL a la tinción de glícidos ligados a las proteínas séricas en la electroforesis sobre papel. Partimos de 0,01 ml. de suero y una vez obtenidas las fracciones electroforéticamente llevamos a cabo la tinción en los siguientes tiempos, empleando el ácido periódico y el reactivo de SCHIFF preparado según LAURELL y SKOOG:

1.—Fijación de las bandas en alcohol absoluto, 5 minutos.
2.—Oxidación en ácido periódico, 5 minutos.
3.—Lavado en etanol de 70°, 2 minutos.
4.—Nuevo lavado en etanol de 70°, 2 minutos.
5.—Reducción, en solución reductora, 8 minutos.
6.—Lavado en etanol de 70° (dos lavados de 2 minutos cada uno).
7.—Secado de las bandas entre dos hojas de papel filtro.
8.—Coloración de las bandas por el reactivo de Schiff, de 15 a 40 minutos.
9.—Lavados sucesivos (tres veces) de 5 a 10 minutos en 300-400 ml. de agua sulfitada.

Las lecturas se hacían en un espectofotómetro Beckman, previa elución de las tiras, llevando el aparato a cero con el blanco de cada fracción, y leyendo a 550 milimicras. Los resultados se expresan en valores relativos.

En la determinación de mucoproteínas tenemos en cuenta la propiedad de estas sustancias de ser solubles en ácido perclórico y precipitar por el ácido fosfotungstico. Hacemos la técnica en dos tiempos, en un primer tiempo precipitamos las proteínas del suero por el ácido perclórico 0,75 M y el filtrado así obtenido lo tratamos con ácido fosfotungstico al 5% en clorhídrico 2 N para precipitar las mucoproteínas, y con este precipitado de mucoproteínas seguimos operando en un segundo tiempo de manera diferente según cómo quieran expresarse los resultados. Para expresar la mucoproteinemia en proteínas, practicamos la reacción del biuret siguiendo a WINZLER y empleando una solución standard de caseína que contiene 5 mg. de caseína en 5 ml. de sosa 0,1 N; la lectura se hace en un Beckman a 540 milimicras.

Para las mucoproteínas expresadas en hexosas, siguiendo también a WINZLER empleamos la reacción del orcinol y una solución standard de galactosa-manosa que contiene 0,1 mg. de galactosa/ml. y 0,1 mg. de manosa/ml.; hacemos la lectura en un Beckman a 540 milimicras. Para la mucoproteinemia expresada en tirosina, utilizamos el reactivo de Folin-Ciocalteu y una solución standard de tirosina, que contiene 100 gammas de tirosina/ml.; la lectura la hacemos en un Beckman a 560 milimicras.

La mucoproteinemia total la hacemos por el método turbidimétrico de

HUERGA, empleando solamente ácido fosfotungstico, agitando con inversión repetida el tubo y haciendo inmediatamente la lectura a 650 milimicras en un Beckman.

Todos los resultados los expresamos en mg./100 ml. de suero.

Para la determinación de hexosas totales ligadas a proteínas, partimos de 0,1 ml. de suero, al que se añade 5 ml. de etanol de 95%. Después de centrifugar y obtener el precipitado, éste se disuelve en 1 ml. de sosa 0,1 N. El patrón se prepara con la misma solución standard de galactosa-manosa y se hace igual la lectura que en la determinación de mucoproteínas expresadas en hexosas. Los resultados también los expresamos en mgr./100 ml. de suero.

Hallazgos.

En este capítulo trataremos de resumir los datos encontrados a través de nuestro trabajo, y agrupados en hallazgos en sujetos normales, en observaciones clínicas, y los encontrados en el estudio experimental.

1.—*Determinaciones practicadas en sujetos considerados como normales.*

Los exámenes son realizados en sujetos normales de ambos sexos, en las mismas condiciones y con idéntica técnica que los practicados en los casos patológicos estudiados, haciendo las siguientes pruebas:

A) *Determinación de PCR.*—Determinamos la PCR en 50 sujetos tomados como sanos y en todos fue negativa, excepto en un caso que resultó positiva +3 con una V. S. G. de 5/8; repetida la prueba en una segunda y tercera determinación, continuó siendo positiva +3. Sorprendidos por esta positividad y hecho un interrogatorio, resultó que el sujeto —F. A., varón, de 23 años, estudiante— presentaba una herida infectada en un pie. Repetida la prueba a los 20 días fue negativa.

B) *Determinación de V. S. G.*—La practicamos en 10 hombres y 10 mujeres, con unos valores medios normales (M_1) para hombres en la primera y segunda hora de 2,9 y 7, e índice de Katz 3,2; una desviación standard de 2,11, 1,57 y 2,28 respectivamente y con unos límites de normalidad ($\pm$ 2 sigma) de 7,12 para la primera hora, 10,14 para la segunda y 7,6 para el índice de Katz.

En mujeres encontramos unos valores medios normales de 3,7, 7,3 y 3,97 para la primera y segunda hora y para el índice de Katz; una desviación standard de 2,77 y 2,11 y unos límites de normalidad ($\pm$2 sigma) de 9,24 para la primera hora, 13,30 para la segunda y 8,90 para el índice de Katz *.

* En ésta y en las demás determinaciones la desviación standard la obtuvimos aplicando la fórmula: sigma= $\sqrt{M_2 - M_1{}^2}$ M_1=Media aritmética de los valores del protocolo. M_2=Media aritmética de los cuadrados de los valores del protocolo.

Los límites de normalidad se obtuvieron con la fórmula: $M_1 \pm 2$ sigma aplicada para poder comprender el 95,44% de todas las observaciones. Para determinar los valores medios normales se aplicó la fórmula: $M_1 = \frac{\Sigma}{n}$ Σ= suma de los datos; n=número de datos.

C) *Proteinograma expresado en valores absolutos y relativos.*—Deter-

minamos valores de proteinogramas en 10 hombres y 10 mujeres expresados en valores absolutos y relativos de sus distintas fracciones, determinando también los valores de proteinemia total, globulinas totales y cociente A/G.

Los valores medios normales de proteínas totales obtenidos es de 6,95 gr. %, con una desviación standard de 0,300 y unos límites de normalidad de 6,35-7,55 gr. %. Para la fracción albúmina obtenemos un valor medio normal de 4,64 gr. %, una desviación standard de 0,200 y un límite de normalidad de 3,76-5,52 gr. %; en valores relativos los resultados son de 66,82%, una desviación de 6,10 y un límite de normalidad de 54,62-79,02%. Para la globulina alfa 1 obtenemos un valor medio de 0,24 gr. %, con una desviación de 0,010 y unos límites de normalidad de 0,22-0,26 gr. %; en valores relativos el resultado es de 3,52%, una desviación de 1,20, y unos límites de normalidad de 1,12-5,92%. Para la fracción alfa 2 obtenemos como valor medio 0,46 gr. %, una desviación standard de 0,014 y unos límites de 0,43-0,49 gr. %; los valores relativos son de 6,77%, desviación de 1,77 y límites de 3,23-10,31%. Para la beta globulina, encontramos 0,62 gr. %, una desviación de 0,017, y límites de 0,49 a 0,65 gr. %; los valores relativos son de 8,94%, desviación de 2,62 y límites de 3,70-14,18%. En la globulina gamma encontramos valores absolutos de 0,96 gr. %, una desviación de 0,022, y límites de 0,94-0,98 gr. %; en valores relativos encontramos 13,88%, desviación de 2,64 y límites de 8,60-19,16%. El valor medio de globulinas totales encontrado es de 2,30 gr. %, una desviación de 0,046 y unos límites de 2,25-2,34 gr. %. Para el cociente A/G obtenemos como valor medio 2,11 gr. %, con desviación standard de 0,052 y límites de 2,05-2,16 gr. %.

D) *Glicidograma expresado en valores relativos.*—Hacemos glicidogramas en 10 sujetos normales de ambos sexos, encontrando en las distintas fracciones los siguientes valores medios, expresados en tantos por ciento: para la fracción albúmina, un valor medio normal de 12,20%, con una desviación standard de 6,72 y unos límites de normalidad de 1,24-25,64%. Para la globulina alfa 1, un valor medio de 17,07%, una desviación de 6,78 y unos límites de 3,51-30,63%. Para la alfa 2 globulina el valor medio normal es de 30,94%, con una desviación de 6,17 y unos límites de 18,60-43,28%. A la beta globulina le encontramos un valor medio de 24,60%, una desviación de 5,10 y unos límites de 14,40-34,80%. Para la gamma globulina el valor medio es de 15,97%, con una desviación standard de 6,50 y unos límites de 2,97-28,97% *.

* Presentamos 3 observaciones de proteinogramas y glicidogramas de individuos normales hechos electroforéticamente a la vez y colocado el suero en el mismo punto de partida, por ser el sistema que seguimos para ver el desplazamiento y localización de las fracciones en el glicidograma.

A pesar del gran margen de variabilidad encontrado en los glicidogramas normales, destaca en todos, como puede verse gráficamente en las figuras 1 y 2, el contraste entre sus fracciones y las del proteinograma. Mientras en éste las de mayor porcentaje son la albúmina y globulina gamma, en el glicidograma las más ricas en sustancias P. A. S. positivas son las globulinas alfa 1, alfa 2 y beta.

Observación N.º 1. A. S., varón, 24 años, estudiante. Normal. (18-VI-58). Fig. 1.

Proteinograma expresado en valores relativos: Albúmina 68,55%, globulina alfa 1 4.58%, alfa 2 8,45%. beta globulina 8,09% y gamma 10,32%. Glicidograma expresado en valores relativos: albúmina 19,65%, globulina alfa 1 21,81%, alfa 2 24,95%, beta globulina 20,72% y gamma globulina 12,86%.

OBSERVACION Nº1 OBSERVACION Nº2

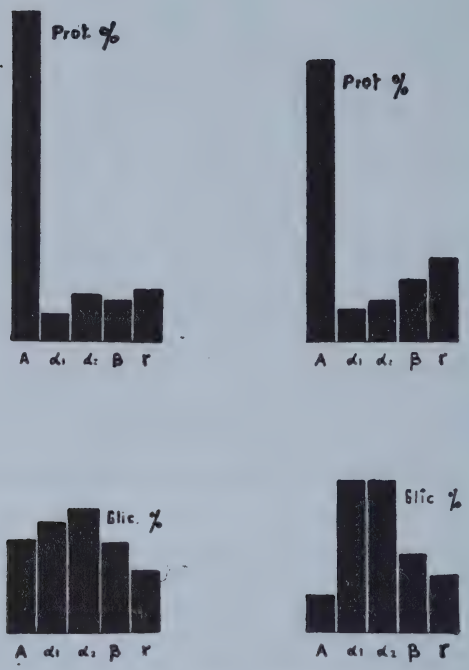


Fig. 1.—*Proteinograma y glicidograma comparados expresados en valores relativos*

Observación N.º 2. B. C., varón, 26 años. Estudiante. Normal. (19-VI-58). Fig. 1.

Proteinograma expresado en valores relativos: Albúmina 58.40%, globulina alfa 1 5,60%, alfa 2 6,40%, beta globulina 12,00%, y gamma globulina, 17,60%. Glicidograma expresado en valores relativos: albúmina 7,20%, globulina alfa 1 32,40%, alfa 2 32,40%, beta globulina 16,40% y gamma globulina 11,60%.

Observación N.º 3. A. F., varón, 20 años. Estudiante. Normal. (19-VI-58). Fig. 2.

Proteinograma expresado en valores relativos: Albúmina 72,37% alfa 1 globulina 2,63%, alfa 2 4,60%, beta globulina 8,55% y gamma globulina 11,84%. Glicidograma expresado en valores relativos: albúmina 21,57%, alfa 1 globulina 16,62%, alfa 2 26,21%, beta globulina 27,59% y gamma globulina 8,01%.

D) *Determinaciones de mucoproteínas expresadas en proteínas, hexosas y tirosina y mucoproteinemia total.*—Practicamos mucoproteínas en 10 sujetos normales de ambos sexos expresadas en mgr. % de proteínas, hexosas y tirosina y los resultados obtenidos son los siguientes: Mucoproteinemia referida a proteínas, nos da un valor medio normal de 60,07 mgr. %, con una desviación standard de 2,100 y unos límites de normalidad de 56,50-64,90 mgr. %. En las mucoproteínas referidas a hexosas obtenemos valores medios de 12,25 mgr. %, con una desviación de 0,046 y límites de 12,15-12,34 mgr. %.

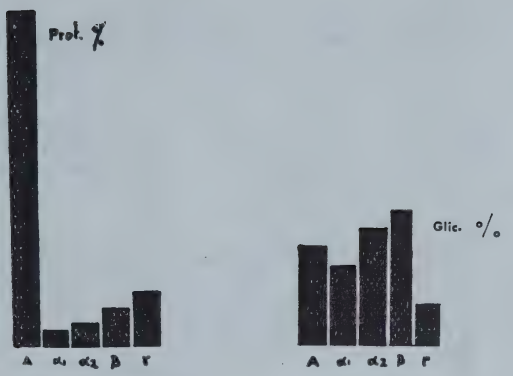


Fig. 2.—*Proteinograma y glicidograma comparados expresados en valores relativos*

Expresadas las mucoproteínas en tirosina, obtenemos 3,23 mgr. % como valor medio normal, una desviación de 0.099 y unos límites de 3,03 a 3,43 mgr. %.

En la mucoproteinemia total por turbidimetría (Huerga) obtenemos valores diferentes según el sexo. Hecha la determinación en 10 varones y en 10 mujeres, obtenemos en los primeros un valor medio normal de 80,00 mgr. %, con una desviación standard de 9,320 y unos límites de 61,36-98,64; en mujeres los resultados son de 78,80 mgr. % los valores medios normales, con una desviación de 9,590 y límites de 59,62-97,98 mgr. %.

E) *Determinaciones de hexosas totales.*—Los valores de hexosas totales en 10 sujetos normales de ambos sexos son de 106,89 mgr. % como valor medio, con una desviación de 16,340 y límites de 73,91 a 139,27 mgr. %.

2.—*Observaciones clínicas y resultados.*

En 104 enfermos de diversas afecciones estudiamos simultánea y comparativamente los hallazgos de PCR, V. S. G. y proteinograma.

En otro grupo de 29 pacientes, también de diversas afecciones, estudiamos además las mucoproteínas expresadas en proteínas, hexosas y tirosina, la mucoproteinemia total y las hexosas totales.

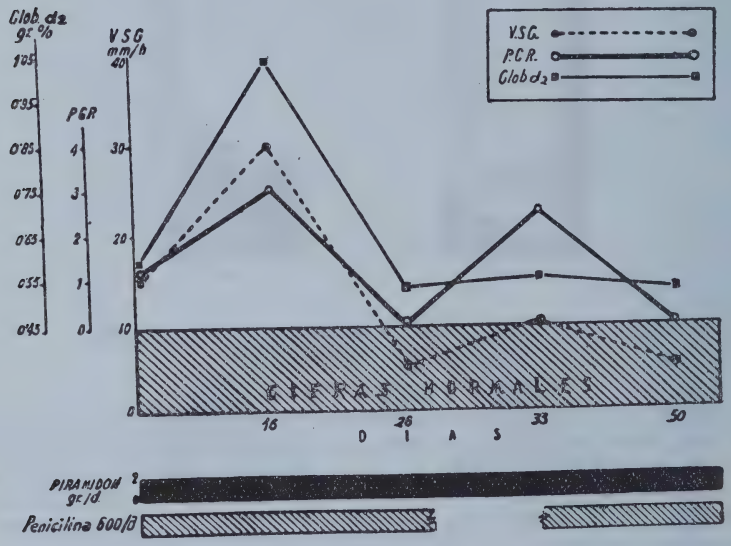
Y en un tercer grupo de otros 29 pacientes, determinamos además glicidograma.

En general, en todos los casos estudiados, la comparación simultánea de PCR, V. S. G., proteinograma, mucoproteinemia y glicidograma, guardan un paralelismo en el sentido de aparición de PCR y elevación de los otros valores, y disminución cuando la evolución clínica tiende a la normalidad.

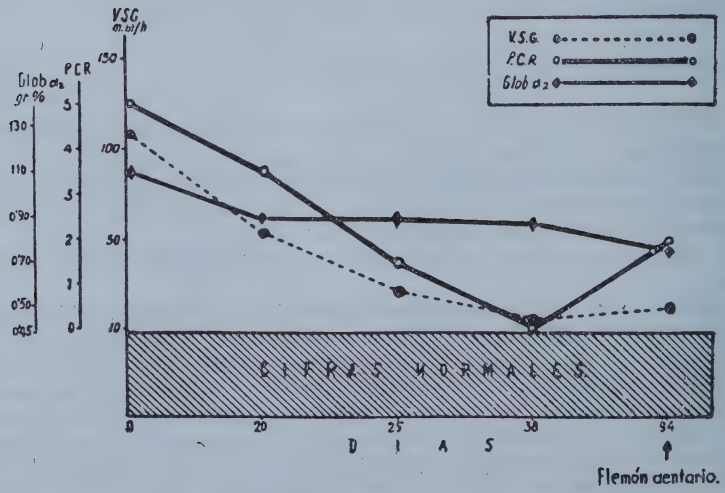
De entre los casos estudiados entresacamos solamente 3, por vía de ejemplo, para ver gráficamente la evolución comparada de los hallazgos clínicos y humorales en determinaciones simultáneas de PCR, V. S. G., mucoproteinemia total y globulina alfa 2 del proteinograma. (Fig. 3. Casos 1, 2 y 3).

En todas las curvas se ve en general, que la disminución de la PCR coincide con el descenso de la V. S. G., con el Huerga (mucoproteinemia total) y con los valores de la globulina alfa 2 del proteinograma. Y que una curva ascendente señala el aumento de la PCR coincidiendo con elevación de la V. S. G. y de los otros valores. Puede observarse también que es de aparición

C. A. ♀ 16 años. FIEBRE REUMATICA



P. D. ♀ 11 años. ENDOCARDITIS LENTA



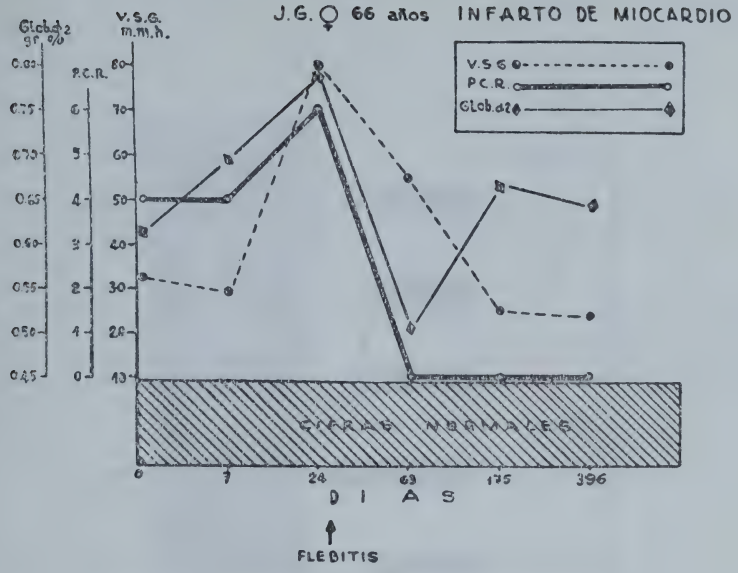


Fig. 3.—*Curvas de evolución comparada de los hallazgos clínicos y humorales*

más precoz la PCR que la V. S. G. cuando en la evolución de la enfermedad ocurre algún episodio sobreañadido (caso n.º 2, aparición de un flemón dentario) o cuando se disminuye o suspende el tratamiento antes de la curación (caso n.º 1, suspensión del tratamiento), y resalta también la desaparición de la PCR primero que la normalización de la V. S. G. (caso n.º 3).

Al objeto de estudiar mejor el momento de aparición y desaparición de la PCR en relación con la V. S. G. y con las modificaciones del proteinograma, presentamos resumidamente los resultados obtenidos en 3 operados de hernia, antes y después de la intervención y en un accidentado:

Caso N.º 1. J. R., varón, 53 años. Hernia inguinal derecha. Clínica Dr. Moraza. Fecha 24-I-59. Se practican las extracciones de sangre una hora antes de la intervención y a las 12, 24, 48, 72 y 168 horas, después de la misma.

Tiempos:	V. S. G.	PCR	Alfa 2
Antes oper.	2/ 5	0	0,58 gr.%
12 h.	8/10	+1	0,61 "
24 h.	9/27	+4	0,65 "
48 h.	33/63	+5	0,86 "
72 h.	36/70	+1	0,57 "
168 h.	34/69	0	0,53 "

Evolución comparada de la PCR con la V. S. G. y la globulina alfa 2 del proteinograma en diferentes tiempos

Destacamos aparte (Fig. 4) el gran paralelismo que existe entre la globulina alfa 2 y la PCR.

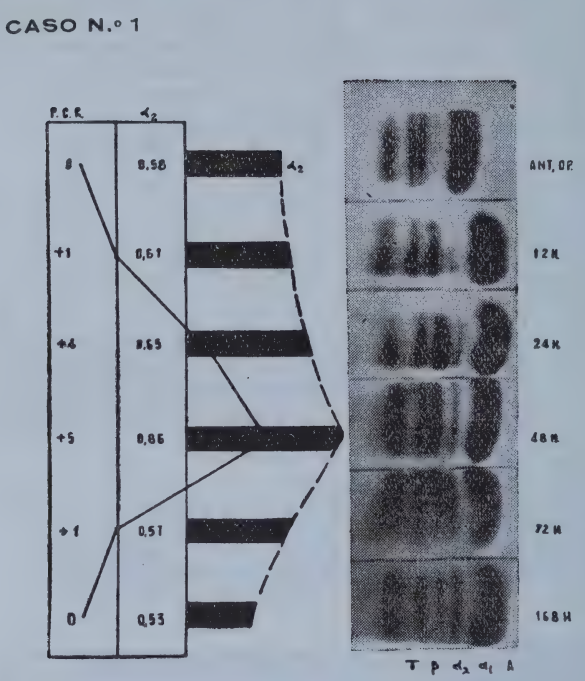


Fig. 4.—*Paralelismo entre PCR y la globulina alfa 2 del proteinograma*

Caso N.º 2. A. B., varón, 19 años. Hernia crural derecha. Clínica Dr. Moraza. Fecha 24-I-59. Se practican las extracciones de sangre 40 minutos antes de la intervención, y a las 12, 24, 48, 72 y 168 horas después de la misma.

Evolución comparada de la PCR con la V. S. G. y la globulina alfa 2 del proteinograma en diferentes tiempos

Tiempos:	V. S. G.	PCR	Alfa 2
Antes oper.	1/ 3	0	0,57 gr.%
12 h.	4/13	+2	0,52 "
24 h.	6/15	+4	0,70 "
48 h.	30/52	+5	0,87 "
72 h.	29/51	+4	0,73 "
168 h.	32/46	+1	0,89 "

Caso N.º 3. C. S., varón, 48 años. Hernia inguinal derecha. Clínica Dr. Cuadrado. Fecha 26-I-59. Se practican las extracciones de sangre 30 minutos antes de la intervención, y a las 12, 24, 48 y 120 horas después de la misma.

Tiempos:	V. S. G.	PCR	Alfa 2
Antes oper.	2/ 4	0	0,48 gr.%
12 h.	3/ 6	+1	0,52 "
24 h.	3/ 7	+4	0,54 "
48 h.	15/42	+5	0,69 "
120 h.	21/45	+3,5	0,81 "

Evolución comparada de la PCR con la V. S. G. y la globulina alfa 2 del proeeinograma en diferentes tiempos

Caso N.º 4. P. M., varón, 25 años. Conmoción con contusión y erosiones superficiales en región fronto-parietal izquierda por accidente de bicicleta. Clínica Dr. Cuadrado. Fecha 14-II-59. Se practican las extracciones de sangre aproximadamente a las 8-9 horas del accidente, y después a las 12, 24, 48 y 96 horas en que es dado de alta.

Tiempos:	V. S. G.	PCR	Alfa 2
8-9 h.	2/ 4	0	0.75 gr.%
12 h.	2/ 4	0	0,75 "
24 h.	4/ 9	+1	0,89 "
48 h.	3/ 9	+1	0,97 "
96 h.	3/12	0	0,92 "

Evolución comparada de la PCR con la V. S. G. y la globulina alfa 2 del proteinograma en diferentes tiempos

En todos estos casos destaca la precoz aparición de la PCR en relación con la V. S. G. y disminución o desaparición cuando todavía se mantiene alta la V. S. G. Por otra parte, es muy demostrativo el paralelismo entre la PCR y los valores de la globulina alfa 2 del proteinograma.

Del estudio clínico y hallazgos patológicos de todos los casos estudiados, incluídos los presentados en este resumen, encontramos que en la fase aguda de la enfermedad coincide la aparición de la PCR con elevación de la V. S. G., aumento de las fracciones globulínicas del proteinograma —principalmente la alfa 2— y glicidograma y elevación de los valores normales de las mucoproteínas y hexosas totales, que tienden a normalizarse con la evolución favorable de la enfermedad. Para ver si este paralelismo es simple coincidencia o realmente existe una correlación significativa entre estos aumentos con la PCR, procedemos al cálculo estadístico de todos los casos, determinando las regresiones, correlaciones y significación, aplicando los métodos y fórmulas estadísticas en cada caso y cuyos resultados resumiremos en las conclusiones.

3.—*Estudio experimental.*

Lo referiremos a: A) PCR y proteinograma. B) PCR y mucoproteínas. C) Cristalización. D) Sueros envejecidos y contaminados y E) PCR en medula ósea y en órganos.

A) *PCR y proteinograma.*—El estudio evolutivo comparado entre la PCR y el proteinograma y la correlación entre ambos, nos ha llevado a plantear el problema tantas veces suscitado de en qué fracción o fracciones del proteinograma puede ir asociada la PCR. Para ello intentamos los siguientes procedimientos:

a) *Elución de las fracciones del proteinograma.*—Tomamos tres tiras de electroforesis de sueros PCR +5, PCR +6 y PCR +3 respectivamente y separamos cada una de las fracciones por el mismo procedimiento que seguimos para la elución, pero eluyéndolas en 0,8 ml. de agua bidestilada durante una hora. En cada una de las fracciones eluídas se determina la PCR con antisuero de conejo. Obtenemos una positividad dudosa en la fracción albúmina de los sueros PCR +5 y +6 y en la fracción gamma del PCR +5. Centrifugamos después de la elución para eliminar las partículas de papel que pudieran originar el error, y el resultado es negativo.

b) *Adición a un suero normal de PCR.*—Pretendemos ver qué fracción del proteinograma aparecerá aumentada al añadir a un suero normal un precipitado de PCR. Partimos de un suero normal PCR negativo y cuyo proteinograma es conocido ,al que se añade un precipitado de PCR obtenido de la mezcla de 0.1 ml. de un suero PCR +6 y 0,1 ml. de antisuero de conejo (CRPA). Hacemos electroforesis en dos tiras de papel, colocando en una 0,02 ml. de suero normal y en otra 0,02 ml. del mismo suero en el que se ha disuelto el precipitado de PCR lavado tres veces con suero fisiológico y cloruro cálcico. En los proteinogramas obtenidos aparecen aumentadas todas las fracciones, que creemos debido en parte al precipitado de PCR y en parte a restos de las proteínas del antisuero de conejo a pesar de haber lavado dicho precipitado con suero fisiológico y cloruro cálcico para facilitar la precipitación de la PCR. El ideal sería emplear PCR cristalizada y purificada, pero no está al alcance de nuestros medios.

c) *Sustracción a un suero de PCR.*—Sería la contraprueba del apartado anterior. Partimos de un suero PCR +6 al que se añade CRPA para precipitar la PCR, haciendo electroforesis con el suero antes y después de absorber la PCR con el antisuero. En la electroforesis del sobrenadante se observa una ligera disminución de la globulina alfa 2 en relación con el suero que contiene PCR.

d) *Proteinograma de sueros calentados.*—Siguiendo el mismo razonamiento de ver qué modificaciones sufre el proteinograma en relación con la PCR, tratamos de ver qué fracción globulínica persiste menos desnaturalizada por el calor, teniendo en cuenta que la PCR continúa siendo positiva después de calentar el suero a 65° C. Para ello hacemos primeramente la determinación de PCR en sueros calentados a distintas temperaturas, siguiendo con todos la misma técnica: 1 ml. de suero PCR positivo calentado al baño maría durante media hora, después de dejarlo enfriar se determina la PCR. Observamos que la PCR persiste con la misma positividad en todas las observaciones después de calentar el suero a 65° C durante media hora, y a los 70° C es variable su persistencia, parece ser en relación con la positividad inicial del suero y con el tiempo de calentamiento.

A continuación hacemos electroforesis de un suero PCR positivo a distintas temperaturas: 18°, 40°, 50°, 60°, 65° y 70° C. Hasta los 50° C todavía pueden distinguirse las fracciones proteicas, no así a partir de los 60° C, y aunque parece persistir la albúmina y las globulinas a nivel de la alfa 2, no puede afirmarse nada en relación con la PCR.

e) *Aislamiento de las diferentes fracciones proteicas.*—Procedemos a la separación de las fracciones proteicas por fraccionamiento salino con hiposulfito sódico a distintas concentraciones, para determinar en cada una de ellas la PCR. Para obtener cualquier fracción la técnica es la misma: Partimos de 5 ml. de un suero PCR positivo al que se añade 120 ml. de hiposulfito sódico al 32, 37 ó 46% según las fracciones que queramos separar; operando después tanto con el precipitado como con el filtrado, dializando en saco de celofán frente a suero fisiológico al que se añaden 3 gr. de cloruro cálcico por litro, en nevera, y dializando hasta el momento de comprobar la ausencia de hiposulfito; el producto lo concentramos por ventilación. Con las distintas concentraciones de hiposulfito obtenemos:

Hiposulfito sódico	*Precipitado*	*Filtrado*
32%	gamma	albúmina+alfa+beta
37%	beta+gamma	albúmina+alfa
46%	alfa+beta+gamma	albúmina

Para comprobar la pureza de estas fracciones ponemos una tira de electroforesis de cada una de ellas con un suero control para su migración y localización.

Una vez comprobado por electroforesis el aislamiento de las fracciones, determinamos la PCR en cada una de ellas con antisuero de conejo, obteniendo los siguientes resultados:

Soluciones	Suero PCR +6	Suero PCR +4	Suero PCR +3
gamma	+0,5	+1	±
alb.+alfa+beta	+1	+1	+0,5
beta+gamma	+1	+0,5	0
albúmina+alfa	+1	+1	+1
alfa+beta+gamma	+1	+0.5	+0,5
albúmina	+0,5	±	±

Se observa primero, que las positividades de la PCR no son iguales en el suero del cual partimos, que en las fracciones aisladas obtenidas, y segundo, que si bien no hay una exacta concordancia en los resultados, destaca que la mayor constancia corresponde a las soluciones donde va la globulina alfa. También se observa que en la solución gamma globulina puede ser positiva la PCR, aunque en una comunicación anterior de un caso diagnosticado de agammaglobulinemia habíamos encontrado una PCR +3,5 y descartando que pudiera ir la PCR en esta globulina.

B) *PCR y mucoproteínas.*—No solamente en los hallazgos humorales se observa una correlación entre la PCR y mucoproteínas, sino también el cálculo estadístico nos da una asociación significativa entre ambos factores. Por esto tratamos de ver experimentalmente el parentesco o relación que pudiera existir entre la PCR y mucoproteínas ya que por otra parte también es muy llamativo el paralelismo que observamos entre la PCR y las globulinas alfa del proteinograma cuya migración electroforética corresponde a los componentes MP_1 y MP_2 seromucoides. Para ello determinamos la PCR en a) pre-

cipitados de proteínas y b) en filtrados de mucoproteínas. Partimos de sueros PCR positivos tratados por ácido perclórico 0,75 M, obteniendo así un precipitado de proteínas (no perclorosolubles) y un filtrado de mucoproteínas (perclorosolubles), en los que después de dializados frente a suero fisiológico y de descartar la presencia del perclórico, determinamos la PCR. Simultáneamente seguimos las mismas operaciones con sueros normales PCR negativos para determinar también en el precipitado de proteínas y en el filtrado de mucoproteínas, la PCR, y que nos sirvan de testigos. Los resultados de determinación de PCR en filtrados dializados de proteínas y mucoproteínas, son los siguientes:

	Proteínas (no perclorosolubles)	Mucoproteínas (perclorosolubles)
	PCR	*PCR*
PCR +6	+1	+0,5
testigo	0	0
PCR +6	+0,5	+,1
testigo	0	0
PCR +4	+0,5	+0,2
testigo	0	0

Como se observa, los resultados son sólo de indicios de positividad a pesar de la total negatividad de los sueros testigos.

Basándonos en estos indicios de positividad determinamos mucoproteínas expresadas en hexosas, proteínas y tirosina en precipitados de PCR obtenidos de la mezcla de 0.1 ml. de suero PCR positivo y 0,1 ml. de CRPA, con los resultados siguientes: hexosas 0,06651 mgr.; proteínas 0,97 mgr. y tirosina 0,0231 mgr. Aunque estos hallazgos son demostrativos, para asegurarnos más que no responden a restos de suero humano o de antisuero de conejo, tratamos nuevos precipitados de PCR por ácido perclórico y fosfotungstico.

El precipitado de PCR se disolvió en 0,2 ml. de citrato sódico 0,1 M. De esta solución se tomó una muestra en un porta excavado y se añadió ácido perclórico, sin que se produjera ninguna precipitación. En otro porta se tomó otra muestra, añadiendo ácido fosfotungstico, produciéndose un precipitado. Igual ocurría si en el primer porta donde habíamos añadido el perclorico, añadíamos ahora fosfotungstico.

En cambio, añadiendo tanto al suero humano de donde partimos, como al antisuero de conejo (CRPA), ácido perclórico, precipitan rápidamente.

Es evidente que el complejo PCR-CRPA es un compuesto perclorosoluble, igual que lo son las mucoproteínas.

C) *Cristalización.*—Para reafirmarnos más en nuestras conclusiones, intentamos siguiendo a Mac Carty, obtener la PCR cristalizada. Procedemos primero a su aislamiento de un suero PCR positivo (0,1 ml.) con el CRPA (0,1 ml.), recogiendo el material por centrifugación, y a continuación llevamos a cabo su purificación lavando el precipitado con suero fisiológico (8'5‰) conteniendo 0,01% de cloruro cálcico, para eliminar las proteínas séricas que pudieran acompañar a la precipitación. Obtenemos así un precipitado de PCR limpio y blanco que ocupa el fondo del tubo y a partir del cual intentamos la cristalización. A este precipitado se le añade 1 ml. de suero fisiológico y se di-

suelve por adición de una solución saturada de citrato sódico gota a gota. A esta solución citratada se añade un volumen igual de sulfato sódico saturado preparado a 37° C. Se hacen dos pruebas simultáneas con la misma técnica y en iguales circunstancias.

A los 6 días de mantenerlo en estufa a 37° C aparece en ambos tubos una precipitación muy pequeña en la superficie de la solución. A los 10 días destapamos uno de los tubos y 5 días después aparecen cristales en la superficie y paredes del tubo, que son de sulfato sódico. En el tubo que permanece tapado persiste la pequeña precipitación en la superficie sin llegar a cristalizarse. Creemos se obtendrían mejores resultados empleando más cantidad de precipitado de PCR.

D) *Sueros envejecidos y sueros contaminados.*—En nuestra experiencia en determinaciones de PCR habíamos observado que nunca en un suero PCR negativo se positivizaba esta proteína al repetir la prueba posteriormente. A propio intento realizamos una serie de observaciones que confirman este parecer. Tomamos 30 sueros, unos PCR positivos y otros negativos, determinando la PCR a las 24, 72 y 96 horas de permanencia en nevera a 4° C en 10 sueros, en otros 10 sueros después de dejarlos a la temperatura ambiente y en otros 10 después de mantenerlos en estufa a 37° C, no encontrando ninguna modificación en la PCR, es decir, que ni se positivizan los sueros negativos ni aumentan ni disminuyen las positividades de PCR en los sueros que ya eran positivos. En otro lote de 10 sueros envejecidos durante un mes no observamos tampoco variación alguna entre la PCR inicial y la final a las 5 semanas.

Los resultados fueron también negativos en 6 sueros PCR negativos contaminados a partir de un cultivo de estafilococos y después de incubación en estufa a 37° C, y determinando la PCR a las 24, 48, 72 y 96 horas. Contaminando con estafilococos otros 6 sueros PCR positivos de distintas positividades, sirviendo como testigo los anteriores y hechas las determinaciones simultáneamente con los sueros negativos, a las 24, 48, 72 y 96 horas, se observó la misma positividad inicial, es decir, que en todos los casos observamos la no modificación de la PCR por el envejecimiento o contaminación del suero.

E) *PCR en medula ósea y en órganos.*—Es la PCR una más de las sustancias de la fase aguda y constituye un problema el lugar de su formación en el organismo. Es lógico pensar que al igual que las mucoproteínas, y mucho más cuando creemos que la PCR es una mucoproteína, se forme en los tejidos y de aquí pase a sangre, desconociéndose la manera de hacerlo. Por si pudiera darnos alguna orientación hemos determinado la PCR en medula ósea y en papillas de órganos, comparándola con los niveles encontrados en sangre.

Aprovechando 5 casos en que fue necesario practicar punciones esternales para mielogramas, se procedió a determinar la PCR en el producto de la punción, tomándolo con un capilar según la técnica de GOLDIN y KAPLAN.

Observaciones:	*PCR en suero*	*PCR en medula*
1.—J. R., mujer, 21 años. Ictericia hemolítica	+0,5	+4
2.—G. M., mujer, 58 años. Diatesis hemorrágica	+0,5	+1,5
3.—G. H., mujer, 64 años. Anemia aplástica ...	+0,5	+0,5
4.—E. G., varón, 25 años. Leucemia	0	0
5.—E. M., varón, 37 años. Cáncer de recto	+6	+6

Determinamos PCR en 4 piezas operatorias —tejido sano y tejido patológico— de 4 enfermos intervenidos de estómago, en un riñón y en material esplénico por punción de bazo. En este último caso seguimos la técnica empleada para la determinación de PCR en medula, en los otros casos partimos de papillas de órganos. Mientras que en medula son mayores las positividades de PCR que en suero, en tejidos la encontramos negativa o sólo indicios de positividad sin poder llegar a una conclusión, pero creemos que es un campo abierto y prometedor para investigar la PCR en los tejidos, con mejores técnicas.

Consideraciones y discusión.

De todos los aspectos de la PCR el que mayor perplejidad causa es el referente a su asociación con las fracciones proteicas, porque según los autores la localizan en cada una de dichas fracciones. Así ABERNETHY y AVERY, MAC LEOD y AVERY y MAC CARTY, la asocian con la albúmina; PERLMAN y col. con la alfa globulina; WOOD, MAC CARTY y SLATER, con GAUTIER y SHEIDEGER, con la globulina beta; WOOD y col., HEDLUND y BRATTSTEN, BUSTAMANTE, ARIÑO y MANUEL PINIES, con la gamma globulina, según los procedimientos seguidos para su localización.

Aunque nuestros métodos no han sido iguales, a los de la mayoría de los citados autores, por carecer de PCR cristalizada y tener que emplear procedimientos indirectos, sin embargo encontramos por electroforesis en papel un aumento de todas las fracciones del proteinograma al añadir a un suero un precipitado de PCR, y por otra parte, en el fraccionamiento salino de un suero por hiposulfito sódico a distintas concentraciones, observamos que no son iguales las positividades de PCR en los sueros de los cuales partimos que en las fracciones aisladas obtenidas donde la PCR se presenta con una positividad mayor correspondiente a la globulina alfa.

Añadiendo a una de estas soluciones obtenidas por hiposulfito sódico al 32% de albúmina+alfa+beta (donde falta la gamma), un precipitado de PCR, y sometiéndolo a electroforesis en papel, obtuvimos un aumento de todas las fracciones, principalmente de la alfa 1 y de la alfa 2, con excepción de la gamma globulina que no apareció. Unido a esto el que en un caso clínico diagnosticado de agammaglobulinemia —aunque con ciertas reservas— encontramos una PCR +3,5, parece descartar que la PCR pueda ir con la gamma globulina, y sin embargo por fraccionamiento salino encontramos en la fracción gamma globulina positiva la PCR.

A pesar de las reservas de que este caso se tratara de una agammaglobulinemia, GOOD encuentra positiva también la PCR en pacientes con agammaglobulinemia, y por otra parte en nuestra experiencia de añadir PCR a una solución desprovista de gamma globulina, se ve que hay un aumento en las demás fracciones, lo que demuestra que es posible la positividad de la PCR en ausencia de gamma globulina, y que no es obstáculo para que cuando esta globulina existe, la PCR pueda ir también asociada a ella, como hemos observado en el aislamiento salino de esta fracción.

Creemos por tanto, que la PCR puede ir asociada con todas las fracciones proteicas, siendo más o menos demostrativo según las técnicas seguidas, y en mayor o menor cuantía según las fracciones.

Los indicios de positividad de PCR en los filtrados de mucoproteínas, nos llevó a tratar precipitados de PCR por ácido perclórico 0.75 M y fosfotungstico al 5% en C1H 2N, con resultados satisfactorios.

Encontramos que la PCR es una sustancia perclorosoluble que precipita por el ácido fosfotungstico, característica que define a las mucroproteínas, pudiendo asegurar que 0,1 ml. de suero humano PCR positivo más 0,1 ml. de

antisuero anti-PCR de conejo, una vez purificado, da un complejo perclorosoluble con las características de los seromucoides. Bajo este punto de vista de que la PCR sea una sustancia perclorosoluble o mucoproteica, explicaría el que la PCR vaya con todas las fracciones del proteinograma y sobre todo el gran paralelismo entre la PCR y la alfa 2 globulina, que a su vez abona esta teoría de considerar la PCR como mucoproteína.

Todos los autores están de acuerdo en que en los filtrados perclorosolubles por electroforesis se obtienen tres fracciones MP_1, MP_2 y MP_3 que se corresponden en movilidad electroforética con la alfa 1, y alfa 2 del proteinograma.

En todos nuestros hallazgos humorales, observamos también esta correlación de aumento de niveles de mucoproteinemia y aumento de globulina alfa 2 y además aparición de la PCR o aumento de su positividad si ya existía, y coincidencia también en el descenso de estos valores. Este marcado paralelismo entre la alfa 2 y la PCR, que nos explicamos en gran parte por tener ambas componentes mucoproteicos —como aceptan todos los autores para la alfa 2— se confirma también estadísticamente en el sentido de que por cada unidad de aumento de la alfa 2, la PCR aumenta en 3,195 y en cambio es débil la influencia de la PCR sobre la alfa 2, pero es el único factor la PCR que influye positivamente sobre la alfa 2, pues tanto la alfa 1, como la beta y la gamma lo hacen negativamente. Es decir, que la PCR estadísticamente parece depender de la alfa 2 de la que forman parte el componente MP_2 (componente mucoproteico) y la haptoglobulina de JAYLE. Es curioso que la haptoglobulina de JAYLE según él y BOUSSIER, representa respecto de la alfa 2 y guarda el mismo paralelismo que para nosotros guarda la PCR respecto de la alfa 2, y por otra parte la haptoglobulina es una mucoproteína perclorosoluble que precipita por el fosfotungstico, igual que nosotros hemos encontrado en la PCR.

Llama la atención el que siendo la alfa 1 la globulina donde según SONNET y BISERTE se encuentra la mayor parte de las mucoproteínas del suero, nosotros no hemos encontrado humoralmente ese paralelismo entre la PCR y la alfa 1, y estadísticamente existe sí una influencia considerable de la alfa 1 sobre la PCR, pero de tipo inverso, existiendo también esa correlación inversa entre la alfa 2 y la alfa 1. Es decir, que la PCR y la alfa 2 hasta estadísticamente se comportan igual con la alfa 1. Parece, pues, indiscutible la asociación entre la PCR y la alfa 2 globulina.

De todos los demás aspectos de la PCR, creemos interesante destacar algunas características en relación con la V. S. G. Estamos de acuerdo con HEDLUND en que el tiempo de aparición de la PCR es entre las 12 y 18 horas, y en determinaciones seriadas simultáneas con la V. S. G., así lo hemos podido comprobar; pero también observamos que la V. S. G. si bien mantenía niveles dentro de un rango de normalidad, éstos estaban aumentados en relación con la primera determinación, y ésta es precisamente una de las ventajas de la PCR sobre la V. S. G., que como la PCR no tiene rangos de normalidad, cuando aparece, por pequeña que sea su positividad, se sabe que siempre es patológica su aparición con característica de organicidad, aunque inespecífica. Por otra parte, en todos los casos hemos podido comprobar que la V. S. G. tarda más en normalizarse que en desaparecer la PCR, con lo cual tiene un más precoz valor pronóstico y terapéutico la PCR que la V. S. G., por eso creemos aconsejable el practicar, en la evolución de un cuadro clínico, juntamente con la V. S. G., determinaciones de PCR.

Aparte de que la PCR en los casos clínicos estudiados, aparece y desaparece primero que la V. S. G., en el curso de la enfermedad hay una correlación en el sentido de que aumentos de una se corresponden con aumentos de la otra, y viceversa. Hecha la correlación estadística, resulta que un aumento como uno en PCR hace aumentar en 9,47 la V. S. G. en la primera hora y

en 10,90 la segunda hora. Sin embargo, un cambio de uno en la V. S. G. apenas tiene influencia en el aumento de la PCR. Es decir, que la PCR tiene una poderosa influencia en el aumento de la V. S. G., pero ésta a su vez tiene muy débil influencia sobre la PCR.

La no positividad de PCR en sueros envejecidos y contaminados hace también pensar como opinan WINZLER, JAYLE y BOUSSIER, CATCHPOLE, ENGEL, para los seromucoides, que su formación tiene lugar en la intimidad de los tejidos acaso por depolimerización de la sustancia fundamental de donde pasarían a sangre, pero hasta ahora no hay trabajos que lo demuestren categóricamente.

También queda por aclarar el interesante problema de si la PCR es una sustancia nueva dentro de las de la "fase aguda" o podría identificarse con alguna otra. Dada su asociación con la alfa 2 globulina y su similitud con la haptoglobulina de JAYLE sería muy interesante continuar los trabajos en este sentido, considerándola como una sustancia perclorosoluble.

Conclusiones.

1.º La PCR es negativa en los individuos sanos.

2.º Su positividad indica organicidad del proceso.

3.º Es una prueba inespecífica de enfermedad.

4.º Tiene un valor pronóstico, como índice de actividad en la evolución de un cuadro y de control terapéutico.

5.º Aparece en sangre precozmente, antes que la V. S. G.

6.º Desaparece también precozmente, cuando aún es elevada la V. S. G.

7.º Existe un gran paralelismo humoral entre la PCR y la globulina alfa 2 del proteinograma.

8.º Existe una correlación estadística de cada uno de los factores PCR, alfa 1, alfa 2, beta y gamma globulinas del proteinograma, con todos los demás tomados en conjunto.

9.º Existe correlación inversa entre la PCR y alfa 1 cuando se eliminan las influencias de las restantes globulinas.

10. Existe correlación positiva entre PCR y alfa 2 cuando se eliminan los demás factores.

11. Es muy poco probable que exista correlación entre PCR y beta globulina, eliminando también las demás influencias.

12. Existe correlación positiva entre PCR y gamma globulina, cuando se prescinde de las otras globulinas.

13. Existe una correlación muy marcada entre la PCR y la V. S. G., en el sentido de que la PCR tiene una gran influencia en el aumento de la V. S. G., pero ésta a su vez tiene una influencia muy débil sobre la PCR.

14. Existe correlación entre la PCR y la mucoproteinemia, tanto expresada en proteínas, hexosas y tirosina, como en mucoproteinemia total.

15. La PCR persiste con la misma positividad en sueros calentados durante media hora, hasta 65º C.

16. La PCR puede ir asociada con todas las fracciones proteicas, siendo más o menos demostrativo según las técnicas seguidas.

17. Los precipitados de PCR obtenidos de la mezcla de 0,1 ml. de suero más 0,1 ml. de antisuero de conejo (CRPA) tienen un contenido de hexosas de 0,06651 mgr.; de proteínas 0'97 mgr. y de tirosina 0,0231 mgr.

18. Los precipitados de PCR son perclorosolubles y precipitan por el ácido fosfotungstico con las mismas características de las mucoproteínas.

19. En sueros envejecidos, la PCR no sufre ninguna modificación, es decir, no se positiviza en los negativos ni aumenta ni disminuye en los que ya lo son.

20. Tampoco sufre ninguna modificación, ni se positiviza en sueros contaminados con estafilococos.

BIBLIOGRAFÍA

ABERNETHY, T. J. y AVERY, O. T., *The ocurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I Distribution of the reactive protein in patiens'sera and the effect of calcium in the flocculation reaction with C Polysaccharide of Pneumococcus.* "J. Exp. Med.", 73, 173, 1941.

ADAMS, F. H., *Newer concepts in the diagnosis and treatment of Rheumatic fever.* "J. A. M. A.", 156, 1319, 1954.

ANDERSON, H. C. y MC CARTY, M., *Determination of C-Reactive Protein in the blood as a measure of the activity of the disease Process in Acute Rheumatic Fever.* "Am. J. Med.", 8, 445, 1950.

—, —, *The ocurrence in the rabbit of an acute phase protein analogous to human C-reactive protein.* "J. Exp. Med.", 93, 25, 1951.

ANTONINI, F. M. y ZILLI, A., *Origine e significato clinico della Proteina Reattiva C.* "Rec. Progr. Med.", 20, 37, 1956.

AVERY, O. T. y HEILDELBERGER, M. Citados por Tillet y Francis. "J. Exp. Med.", 38, 81, 1923.

AZERAD, E.; LEWIN, I., y GHATA, J., *L'électrophórese sur papier. Etude critique.* "Préss. Med.", 31, 717, 1956.

BALCELLS-GORINA, A. y GARCÍA-ALVAREZ, M.ª A., *Proteína C reactiva y agammaglobulinemia.* "Rev. Clín. Esp.", 69, 376, 1958.

BISERTE, G., *Les glycoprotéides du sérum sanguin et de l'urine. Exploration et signification physiopathologique.* "VIe Journées Biochimiques Franco-Helvético-Hispano-Italiennes. Montpellier, 13-16 Mai 1957".

BOLTAX, A. J. y FISCHEL, E. E., *Serologic effects of inflammatory reaction in the human heart.* "Circulation", 12, 682, 1955.

BUNIM, J. J., *Laboratory tests for Rheumatic Activity.* "J. Chronic Dis.", 3, 230, 1956.

—, KUTTNER, A. G.; BALDWIN, J. S., y MC EWEN, C., *Cortisone and corticotropin in Rheumatic fever and juvenile rheumatoid arthritis.* "J. A. M. A.", 150, 1273, 1952.

BUSTAMANTE, V.; ARIÑO, J., y PINIES, L. M., *La localización de la proteína C reactiva.* Estudio inmunoelectroforético. "Rev. Clín. Esp.", 67, 9, 1957.

— *Localisation de la Protéine C. réactive dans les fractions électrophorétiques du sérum.* "Press. Med.", 65, 313, 1957.

CAGLI, V.; PAULUZZI, D., y SERVI, M., *Indice aspecfifici di "Attivitá di malattia".* "Rec. Progr. Med.", 23, 426, 1957.

CALANDRE, L., y QUESADA, D., *La proteína C reactiva como ayuda para el diagnóstico del reumatismo cardioarticular agudo.* "Bolt. Inst. Pat. Med.", 12, 207, 1957.

CATCHPOLE, H. R., *Serum and tissus glycoproteins in mice bearing transplantable tumors.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 75, 221. 1950.

DELAUNAY, A., y BRUNET, P., *La "C-Reactive-Protein" et l'intérêt de sa recherche comme élément de contrôle des états inflammatoires.* "Rev. Frc. Etudes Clin. et Biol.", 3, 176, 1958.

—, —, BAZIN, S.; HIOCO, D.; HENON, M., y MEIGNIEN, CH., *Sérologie des états inflammatoires. I La "C-reactive-protein".* "Press. Med.", 64, 1814, 1956.

—,—,—, HENON, M., y MEIGNIEN, CH., *La "C-reactive-protein".* "Exps. Ann. Bioch. Med.", 53, 1957.

FISCHEL, E. E., *Manifestations of Acute Inflammation in the plasma.* "Med. Clin. North. Am.", 685, 1957.

— *The erytrocyte sedimentation rate and the C-reactive protein tests,* "Bull. Rheum. Dis. Supl." N.º 3, vol. VII, 9, 1956.

FRANCIS, T., y ABERNETHY, T. J., *Cutaneous Reactions in Pneumonia the Somatic "C" Polysaccharide of Pneumococcus.* "J. Clin. Investig". 13, 692, 1934.

GARDNER, F. H., y ROMERO, C., *A preliminary study of small bowel mucoproteins in Tropical Sprue.* "Am. J. Med. Sci.", 231, 82, 1956.

GAUTIER, A.; SCHEDEGGER, J., y SOROUCHYARI, S., *Quelques remarqués sur la protéine C.* "1er Cong. Int. Pat. Infecc. Lyon", 1956.

—, —, *Qu'est-ce que la Protéine-C?* "Schweiz. Med. Wochens", 28, 950, 1957.

GOLDIN, M., y KAPLAN, M. A., *A method of obtaining blood for micro tests. Application to determination of C-Reactive Protein and anti-streptolysin O titers.* "Am. J. Clin. Path.", 25, 1432, 1955.

GOOD, R. A., *Clinical investigations in patiens with agammaglobulinemia.* "J. Lab. Clin. Med.", 44, 803 ,1954.

GRAS, J., *Proteinas plasmaticas.* "Editorial JIMS". Barcelona, 1956.

—, BATALLA, E.; FOZ, A., y TRÍAS DE BES, J., *El laboratorio en la fiebre reumática.* b) *Las pruebas de actividad.* "An. Med.", 43, 60, 1957.

GREENSPAN, E. M., *Significación clínica de las mucoproteínas del suero.* "Prog. Pat. Clin.", 1, 309, 1956.

— DREILING, D., *The serum mucoprotein level in the differentiation of hepatogenous from obstructive jeundice.* "Arch. Int. Med.", 91, 474, 1953.

—, TOPPER, B.; TERRY, L. L., y SCHOENBACH, E. B., *The serum mucoprotein as an aid in the differentiation of neoplastic from primary parenchymatous lever disease.* "J. Lab. Clin. Med.", 39, 44, 1952.

HAVENS, W. P.; EICHMAN, H. L., y KNOWLTON, M., *Failure to find C-reactive protein in viral hepatitis.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 75, 108, 1950.

HEDLUND, P.; FRISK, A. R., y BUCHT, H., *The appearance of acute phase protein after induced fever in man.* "Acta Med. Scand.", 131, 417, 1948.

HEIDELBERGER, M.; MAC LEOD, C. M.; KAISER, S. J., y ROBINSON, B., *Antibody formation in volunters following injection of pneumococci or their type-specific polysaccharides.* "J. Exp. Med.", 83, 303, 1946.

HILL, A. G. S., *C-Reactive protein in the chronic Rheumatic disease.* "Lancet", 2, 807, 1951.

— *C-reactive protein in Rheumatic fever.* "Lancet", 2, 558, 1952.

HOWE, P. E., *The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood.* "J. Biol. Chem.", 49, 93, 1921.

HUERGA, J.; DUBION, A.; KUSHNER, D. S.; DYNIEWIEZ y POPPER, H., *Estudios de la mucoproteina sérica (seromucoide). I. Un método turbidimétrico. II. Variaciones fisiológicas y respuesta al stress.* "Laboratorio", XII, N.º 127, 90-92, 1956.

INFANTE MIRANDA, F., *Las mucoproteínas del plasma en los estados cancerosos.* "Rev. Clín. Esp.", 57, 81, 1955.

— *El seromucoide del plasma. II Relación entre seromucoide y fracciones globulínicas.* "Rev. Clín. Esp.", 65, 186, 1957.

JACOX, R. F., *The activating effect of calcium on a bactericidal substance for Bacillus Subtilis in human serum.* "J. Exp. Med.", 92, 101, 1950.

JAYLE, M. F., y BOUSSIER, G., *Les séromucoïdes du sang, leurs relations avec les mucoprotéines de la substance fondamentale du tissu conjonctif.* "Exposés Annuels de Biochimie Médicale. Serie XVII, pag. 157-194. Masson et Cie. Paris", 1955.

KNIGHTS, E. M.; HUTCHINS, M.; MORGAN, E., y PLOOMPLUN, J., *Use of the C-Reactive Protein test as a screening procedure for blood donors.* "J. A. M. A.", 162, 9, 1956.

KOZONIS, M. C., y GUVERIN, I., *The value of the C-Reactive protein determination in coronary artery disease.* "Ann. Int. Med.", 46, 79, 1957.

KROOP, I. G., y SHACKMAN, N. H., *Level of C-reactive Protein as a measure of acute myocardial infarction.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 86, 95, 1954.

—, —, WEDEEN, P., *The C-reactive protein determination as a diagnostic aid in coronary disease.* "Circulation", 12, 735, 1955.

LA DUE, S. J., *Laboratory aids in diagnosis of myocardial infarction. Changes in muscle enzymes, erythrocyte sedimentation rate, and C-reactive protein in myocardial infarction.* "J. A. M. A.", 165, 1776, 1957.

LEVINGER, E. L.; LEVY, H., y ELSTER, S. M., *Study of C-reactive protein in the sera of patiens with acute myocardial infarction.* "Ann. Int. Med.", 46, 68, 1957.

LIBRETTI, A.; KAPLAN, M. A., y GOLDIN, M., *Precipitin analysis of C-reactive protein by gel diffusion.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 90, 481, 1955.

MAC CARTY, M., *The ocurrence during acute infection of a protein not normally present in the blood. IV cryistallization of the C-reactive protein.* "J. Exp. Med.", 85, 491, 1947.

— *Present status of diagnostic tests for rheumatic fever.* "Ann. Int. Med.", 37, 1027, 1952.

MAC LEOD, C. H., y AVERY, O. T., *The ocurrence during acute infection of a protein not normally present in the blood. II Isolation and properties of the Reactive Protein.* "J. Exp. Med.", 73, 183, 1941.

—, —, *The ocurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. III Immunological properties on the C-reactive protein and its differentiation from normal blood proteines.* "J. Exp. Med.", 73, 191, 1941.

MELHL, J. W.; GOLDEN, F., y WINZLER, R. J., *Mucoproteins of human plasma. IV Electrophoretic demonstration of mucoproteins at pH 4, 5.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 72, 110, 1949.

—, HUMPHREY, J., y WINZLER, R. J., *Mucoproteins of human plasma. III Electrophoretic studies of mucoproteins from perchloric acid filtrates of plasma.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 72, 106, 1959.

MEYER, K., *Mucoids and glycoproteins.* "Advances in Protein Chemistry. Vol. II. Academic Press, New York", 1945.

MULLER, W., y KAEHLER, H. J., *C-reactive protein in the serum.* "Germ. Med. Monthly", 2, 10, 1957.

MULLER-EBERHARD, H. J.; KUNKEL, H. G., y FRANKLIN, E. C., *Two Types of gamma-globulin differing in carbohydrate content.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 93, 146, 1956.

MUSHEL, L. H., y WEATHERWAX, R. J., *Complement fixation in the C-reactive protein system.* "Proc. Soc. Biol. Med.", 87, 191, 1954.

PERIANES, J.; y PELÁEZ, J. L., *Agammaglobulinemia.* "Rev. Clín. Esp.", 66, 35, 1957.

PERLMAN, E.; BOLOWA, J. G. M., y GOODKIND, R., *An immunoligical and electrophoretic comparison of the antibody to C Polysaccharide and the C-Reactive protein of acute phase serum.* "J. Exp. Med.", 77, 97, 1943.

PERRINI, M., y RIZZI, D., *Significato biologico e applicazione cliniche dell'aptoglobina.* "Rec. Prog. Med.", 25, 190, 1958.

RAPPORT, M. M., y GRAF, L., *Quantitativa determination of C-reactive protein by complement fixation.* "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 93, 69, 1956.

RIMINGTON, C., *Seromucoid and the bound-carbohydrate of the serum proteins.* "Biochem. J.", 34, 931, 1940.

ROANTREE, R. J., y RANTZ, L. A., *Clinical experience with the C-reactive protein test.* "Arch. Int. Med.", 96, 674, 1955.

ROMANI, J. D., *La recherche et l' evaluation des glycoprotéines du sérum á l'aide de l'electrophorése sur papier.* "Press. Med.", 62, 1578, 1954.

— *Glycoprotéines et inflammation.* "Biologie Médicale", 45, 74, 1956.

ROZANS, R., y BERCOVICI, B., *C-reactive protein during pregnancy and in cord blood.* "Proc. Soc. Biol. Med.", 92, 4, 1956.

SCHAFFNER, F., y SCHERBEL, A. L., *Whipple's disease. Glycoproteins, lipoproteins and other biochemical studies before and after successful cortisone therapy.* "Gastroenterology", 29, 109, 1955.

SCHEIDEGGER, J. J., *La contribución del análisis inmunoelectroforético al conocimiento de las proteínas séricas humanas.* "Sangre", 2, 264, 1957.

SONNET, J., *Les glycoprotéines sériques a l'état normal et pathologique.* "Editions Arscia" 60, Rue de l'Étuve-Bruxelles, 1956.

SONNEWIRTH, A., *La Proteína C reactiva.* "Laboratorio", 22, 455, 1956.

STIDWOR, G.; PAYNER, R. W.; SHETLAR, C. L., y SHETLAR, M. R., *Objetive evaluation of patients with rheumatic diseases. II Paper electrophoretic studies of serum glycoprotein and protein from patiens with rheumatoid arthritis.* "J. Clin. Invest.", 36, 309, 1957.

STOLLERMAN, G. H.; GLICK, S.; PATEL, D. J.; HIRSCHFELD, I., y ROSOFF, J. H., *Determination of C-Reactive protein in serum as a guide to the treatment and management of Rheumatic fever.* "Am. J. Med.", 15, 645. 1953.

TILLETT, W. S., y FRANCIS, T., *Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus.* "J. Exp. Med.", 52, 561, 1930.

—, GOEBEL, W. F., y AVERY, O. T., *Chemical and immunological properties of a species-specific carbohydrate of pneumococci.* "J. Exp. Med.", 52, 895, 1930.

TISELIUS, A., *A new apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures.* "Tr. Faraday Soc.", 33, 524, 1937.

TRÍAS DE BES y TERRES J., *La prueba de la determinación de la proteína reactiva C en la fiebre reumática.* "Med. Clín.", 26, 19, 1956.

VARAY, A., y MASSON, M., *Les mucoprotéines du sérum. Intérêt pratique de leur détermination.* "Press. Med.", 68, 1323, 1960.

WALL, R. L., *The use of serum protein Electrophoresis in clinical medicine.* "Arch. Int. Med.", 102, 618, 1958.

WINZLER, R. J., *Methods of Biochemical Analysis. Determination of serum Glycoproteins.* "Vol. II, 279. Interscience Publishers, New York", 1955.

—, DEVOR, A. W., MELH, J. W., y SMYTH, I. M., *Studies on the mucoproteins of human plasma. I Determination and isolation.* "J. Clin. Invest.", 27, 609, 1948.

WOOD, H. F., *The relationship between the acute phase response and antibody production in the rabbit. I Correlation between the early appearance of Cx-Reactive protein and subsequent antibody production.* "J. Exp. Med.", 98, 311, 1953.

— *The relationship between the acute phase response and antibody production in the rabbit. II The stimulation of Cx-Reactive protein response by certain adjuvants and the relation of this response to the enhancement of antibody formation.* "J. Exp. Med.", 98. 321. 1953.

—, DIAMOND, H. D.; CRAVER, LL. F.; PADER, E., y ELSTER, S. K., *Determination of C-Reactive protein in the blood of patiens with Hodgkin's disease.* "Ann. Int. Med.", 48, 823, 1958.

—, y MAC CARTY, M., *The measurement of C-reactive protein in human serum. Comparison of the clinical tests on the basis of a quantitative method.* "J. Clin. Inv.", 30, 616, 1951.

WUNDERLY, CH., *La electroforesis en papel.* "Editorial Científico-Médica", Barcelona, 1956.

WUHRMANN y WUNDERLY, *Las proteínas sanguíneas en el hombre.* "Editorial Científico-Médica. Barcelona-Lisboa-Madrid", 1949.

YOCUM, R. S., y DOERNER, A. A., *A clinical evaluation of the C-Reactive Protein test.* "Arch. Int. Med.", 99, 74, 1957.

ZIEGRA, S. R. y KUTTNER, A. G., *Reappearance of abnormal Laboratory findings in Rheumatic Patiens following withdrawal of ACTH or cortisone (with special reference to C-reactive Protein).* "Am. J. Med. Sc.", 222, 516, 1951.

ESTUDIOS SOBRE PROTEÍNAS EN GLOMERULONEFRITIS, INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA Y GESTACIÓN

POR

MANUEL BENITO SENDÍN

Dada la diferente concentración proteica del suero en relación con la obtenida en otros líquidos orgánicos, hemos dirigido nuestro trabajo al estudio electroforético de las proteínas sanguíneas al mismo tiempo que las de la orina y líquido edema en diversas enfermedades con el objeto de, hacer un estudio comparativo e intentar de obtener datos que nos pudieran orientar en el papel jugado por la membrana capilar en la composición proteica de estos líquidos biológicos, supuesto el paso constante tanto fisiológico como patológico de las proteínas a través de los capilares glomerulares y del espacio intersticial; animados además por la escasa cantidad de trabajos publicados, muchos de ellos contradictorios entre sí en lo que tal vez influye el pequeño número de casos estudiados.

A todo ello se unió el lógico deseo de dirigir en parte nuestra Tesis Doctoral hacia uno de los problemas de la Patología Médica que más frecuentemente nos encontramos en el ejercicio profesional como consecuencia de estar dedicados de una manera especial al estudio de los enfermos cardíacos.

MATERIAL Y METODOS

SUEROS.—Los sueros eran recogidos el mismo día que los líquidos edema u orina a investigar, siendo sencillamente mantenidos en nevera a 0° hasta su estudio. Las tomas de sangre se practicaban estando los enfermos en ayunas.

ORINAS.—Las muestras de orina representaban la eliminación de 24 horas del enfermo a estudiar; una vez recogida la orina se procedía a su filtrado inmediato, guardándose en nevera hasta su utilización, que se hacía en las 24 horas siguientes.

CONCENTRACION.—Cuando el contenido en proteínas totales de la orina era insuficiente para obtener un fraccionamiento por electroforesis en papel, procedíamos a su concentración por evaporación, método utilizado especialmente por PATTE, BALDASAIRE y LORET [1], quienes en un estudio comparativo, obtienen idénticos resultados, que con la concentración por dialisis. Para su concentración se introducía la orina en bolsas de colodión especiales para dialisis, sometiéndolas a una evaporación rotativa, sin sobrepasar en ningún momento los 37° de temperatura a fin de evitar se produjeran alteraciones de las proteínas. La concentración se practicaba hasta que el contenido en proteínas era semejante a la del suero.

Para contrarrestar la concentración de sales y hiperpigmentación de la orina resultantes de las anteriores operaciones, dializábamos frente agua destilada durante tres días consecutivos, cambiando el agua dos veces al día,

procediendo posteriormente a nueva concentración por evaporación hasta obtener nuevamente la concentración proteica deseada.

Terminada la concentración la orina resultante es sometida a la centrifugación, procedimiento que se considera indispensable para eliminar, si ha tenido lugar, alguna precipitación de sales, que podría alterar la traslación de las fracciones en el curso de la electroforesis.

LIQUIDO EDEMA.—La recogida del líquido edema se ha practicado por punción subcutánea. El líquido así obtenido es centrifugado inmediatamente, pasándolo a la nevera hasta su utilizacion.

Para la concentración del líquido edema hemos seguido el mismo procedimiento que para la orina.

DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES.—En suero y en líquido edema se efectuó por la técnica del hiposulfito sódico y reacción colorimétrica del Biuret; la lectura en el Electrofotómetro se practicó con filtro verde, enrasando a cero con el blanco de reactivo; multiplicando la cifra obtenida por el Factor de Corrección previamente determinado.

Para hallar la proteinuria total, se empleó una técnica turbidimétrica, comparando las densidades ópticas obtenidas con una curva de calibración previamente determinada, dándonos la cifra de miligramos por mil de proteínas totales.

FRACCIONAMIENTO PROTEICO.—La separación proteica se efectuó mediante electroforesis sobre papel en aparato "Elphor", el cual lleva adosado un rectificador de corriente. La tensión de éste es de 120 V., y unos 5 mA. de intensidad. En todas las pruebas se usa papel de filtro CARLSCHLICHER 6 SCHULL (n.° 589).

La técnica que seguimos para la electroforesis es la de GRASSMAN y HANNIG [2], con pequeñas diferencias.

Para la tinción de las tiras obtenidas se empleó el Amidoschwarz 10 B Bayer en solución saturada en alcohol metílico, que contiene 10% de ácido acético. La decoloración se practicó con una mezcla de metanol y 10% de ácido acético.

Practicada la elucción de cada una de las fracciones separadas por el proteinograma, se procede a la lectura en el fotocolorímetro, filtro verde onda de 550, enrasando a cero con el blanco de reactivo.

GLICOPROTEINAS.—La técnica seguida hasta la obtención de la tira electroforética de los diferentes líquidos, suero, edema y orina, es la misma que hemos expuesto anteriormente, variando únicamente la cantidad de líquido que colocamos sobre la tira de papel, que oscilaba entre 0'03 y 0'05 c.c.,

La coloración de las glicoproteínas se verificó según la técnica de KOIW y GRONWALL, modificada por LAURELL y SKOOG [3]. Para hallar los valores de glicoproteínas contenidas en las diferentes fracciones, procedimos a su elucción con Na normal, calentando posteriormente al baño María a 70°, durante 20 minutos, añadiéndole a cada una 5 c.c. de etanol absoluto, y previo enfriamiento 1 c.c. de ácido acético glacial; procediendo a la lectura en el espectofotometro BECKMANN, contra un blanco de reactivo para cada fracción, longitud de onda 550 milimicras.

Con las densidades ópticas obtenidas se calcularon los tantos por ciento de las diferentes fracciones.

RESULTADOS OBTENIDOS

a) GLOMERULONEFRITIS.—En este apartado han sido englobados 36 enfermos portadores de una glomerulonefritis en diverso período evolutivo, que, sin pretender hacer una clasificación de las glomerulonefritis, hemos agrupado teniendo en cuenta únicamente en el momento de practicar la investigación el cuadro clínico, la participación vascular y el estado sanguíneo y urinario usuales (colesterinemia, concentración de urea, sedimento urinario, etc.).

Siguiendo este criterio empírico hemos distribuído los casos en los siguientes grupos: La glomerulonefritis difusa aguda, representada por el grupo 1.°, y la glomerulonefritis crónica, representada por los grupos 2.°, 3.° y 4.°.

En todos ellos se ha practicado el estudio electroforético del suero según la técnica anteriormente expuesta, y en 33 la electroforesis de orina. Se ha estudiado el factor de permeabilidad renal para las diferentes fracciones, así como el glicidograma en suero y orina en algunos de ellos, cuyos resultados exponemos en el capítulo correspondiente.

Grupo 1.°: En este grupo se estudian 5 enfermos que, en un período evolutivo de su enfermedad inferior a dos meses, y no habiendo padecido afección renal anterior, presentaban con mayor o menor predominio de síntomas el cuadro clínico típico de las glomerulonefritis difusas agudas.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
5	Suero	6'33	59'64	3'22	8'11	9'06	19'14	1'56
4	Orina	2'40	74'75	6'60	6'27	6'72	4'95	2'80

Los valores de las proteínas totales en suero se refieren a gr. por cien c.c. en orina a gr. por mil. El proteinograma lo expresamos en cifras relativas (%).

En este grupo de enfermos la proteinemia total raya con la normalidad, el cociente albuminoglobulina y la albúmina pueden considerarse dentro de los límites normales. De las globulinas únicamente la gamma puede considerarse discretamente elevada; el resto está dentro de los límites normales.

En la orina el cociente albuminoglobulina se nos presenta intensamente elevado, alcanzando las cifras más altas de todos los grupos. Esta alteración es debida a la intensa albuminuria, que viene a representar las 3/4 partes del total de proteinuria. Las globulinas representan el 25% del contenido proteico total.

Grupo 2.°: Glomerulonefritis crónicas (Forma hipertensiva uremigena). Los enfermos incluídos en este grupo (7 casos), con un tiempo evolutivo variable de su afección, han sobrepasado el tiempo de tres meses que consideramos como límite de transición entre glomerulonefritis difusa aguda y crónica.

Entre su sintomatología, además de las alteraciones del sedimento urinario, presentan como manifestaciones más llamativas la hipertensión, las alteraciones vasculares de la retina, insuficiencia renal con la consiguiente alteración ureica y una participación cardíaca de diversa intensidad.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
7	Suero	5'91	51'51	6'51	8'35	10'93	21'75	1'10
»	Orina	3'35	62'11	7'14	7'75	10'28	12'32	1'62

Se acusa en las cifras medias de estos enfermos una discreta disminución de la proteinemia; también el cociente A/G sufre un ligero dencenso, debido a que la albúmina está por debajo de las cifras normales, si bien en cuantía moderada. Entre las globulinas únicamente la gamma nos llama la atención por su discreta elevación.

En la orina la proteinuria es más acusada que en el grupo anterior, mientras que el cociente A/G acusa un marcado descenso por disminución de la albúmina y mayor proporción de globulinas, sobre todo de la gamma.

Grupo 3.°: (Forma nefrótica de la glomerulitis crónica). Incluímos en este grupo aquellas nefritis cuyos síntomas predominantes son: edema, hipoproteinemia, hipercolesterolemia y pronunciada proteinuria, mientras que la presión arterial se halla dentro de los límites normales y la función renal conservada.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
14	Suero	4'47	30'24	4'78	31'66	14'77	18'06	0'47
»	Orina	7'25	60'02	13'95	8'49	96.6	8'22	1'63

Son notas características del proteinograma de estos enfermos la intensa disminución de las cifras totales de proteínas sanguíneas, la marcada hipoalbuminemia, motivando esta última la pronunciada inversión del cociente A/G. Entre las globulinas la alteración más marcada es la hiper alfa 2 globulinemia, representando casi un tercio del total de proteínas; la alfa 1 se halla algo disminuída, mientras que la gamma se mantiene indiferente y la beta ligeramente aumentada.

Lo más llamativo en la orina es la intensa proteinuria, alcanzando las cifras más elevadas de todos los grupos. Es también notable la diferencia de concentración de albúmina en el suero y en la orina por elevación en ésta, así como la que hay entre los valores de alfa 2 en sentido inverso.

Grupo 4.°: (Glomerulonefritis crónica con síndrome nefrótico, vascular, insuficiencia renal) Forma Mixta. Esta forma que denominamos como mixta engloba un grupo de enfermos [10], en cuyo cuadro se asocian con participación de intensidad diversa los síntomas predominantes en las dos formas anteriores. Hay en ellos una insuficiencia renal con la consiguiente retención ureica e hipertensión arterial, así como marcado edema, hipoproteinemia pronunciada y aumento de la cifra de colesterol.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
10	Suero	4'48	38'78	6'50	22'61	12'26	18'36	0'55
»	Orina	5'00	61'42	10'91	7'17	9'53	10'25	1'71

Puede verse la semejanza del proteinograma sanguíneo de estos enfermos con los del grupo anterior, son características la intensa hipoproteinemia, hipoalbuminemia (no llegando sin embargo a adquirir los valores tan extremos del grupo 3.°); inversión del cociente. Las globulinas presentan una hiper alfa 2 muy acusada, si bien no alcanza los valores tan altos de la forma nefrótica; el resto de globulinas permanece prácticamente indiferente.

Las cifras totales de proteínas urinarias se nos presentan muy aumentadas, si bien en menor grado que en la forma nefrótica. La diferencia de porcentaje entre la albúmina y alfa 2 globulina del suero con sus correspondientes fracciones de la orina, no son tan marcadas como en el grupo 3.°.

PROTEINEMIA EN LA GLOMERULONEFRITIS

Los datos obtenidos en las formas agudas (grupo n.° 1), concuerdan con escasas diferencias con los existentes en la literatura; quizá con los que ofrecen una semejanza más acusada son los presentados en el trabajo de Díaz Rubio [4 bis].

Nuestros resultados en las formas crónicas con participación vascular e insuficiencia renal, ofrecen similares características de hipoproteinemia, hipoalbuminemia, inversión del cociente A/G y aumento de la gamma globulina, obtenidos por Peláez y Borrasca [5], así como por otros autores.

Las glomerulonefritis son síndrome nefrótico sin hipertensión (grupo 3.°), presentan, tanto las cifras totales de proteínas sanguíneas como la albúmina, los valores más bajos de todos los casos así como una pronunciada inversión del cociente. En la explicación de la hipoproteinemia tan marcada que presenta este grupo de enfermos se atribuye en la actualidad un importante papel a la pérdida de proteínas por la orina consiguiente a la alteración de la permeabilidad del glomérulo, debido a su vez a la desaparición de los podocitos de la capa epitelial del capilar glomerular. Como ha podido demostrar Marylyn y Farquhar [6], con el microscopio electrónico incluso en las formas más puras de nefrosis lipoideas, ésta constituye la primera alteración, por lo que en la actualidad son en general aceptadas como una forma particular de las glomerulonefritis y no como entidades independientes. Las lesiones de los tubulos son consideradas como secundarias a esta alteración.

La alta proporción de alfa 2 globulina, y en menor cantidad de la beta, en el suero de estos enfermos, tiene su explicación en el aumento de colesterol sanguíneo, pues sabido es que estas globulinas son las portadoras de la molécula lipoides (globulinas lipoidotrofas), con su mayor dificultad para atravesar el filtro renal por el tamaño de su molécula. Thorn [7], Routh [8], han procedido independientemente a deslipidizar el suero de estos enfermos con síndrome nefrótico por medio del éter, observando entonces una disminución de estas lipoproteínas, que se reflejaba en el proteinograma. El descenso constante de la gamma globulina en estos enfermos observado por Wunderly,

así como CASPANI y en la cifra media de nueve casos estudiados por GRAS, no ha sido hallado por nosotros, pues los resultados, poco diferentes entre sí, rayan en la normalidad.

Parece deducirse de la revisión de la literatura que las variaciones de esta globulina con respecto de lo normal suelen ser discretas; nunca tan llamativas y constantes como la hipoalbuminemia y el aumento de la alfa 2 globulina. En pro de la variabilidad de esta globulina abogan los resultados obtenidos por WUHRMANN y WUNDERLY [9], pues en cuatro enfermos estudiados los valores de esta fracción oscilan entre 5'4 y 29'6%. Resultados similares a los nuestros, han obtenido PARDELLI [10], SALVINI [11], así como PELÁEZ y BORRASCA [5], DÍAZ RUBIO y SEGOVIA, etc. Por lo tanto la globulina gamma no se puede tomar como base que pueda servir de referencia y caracterizar el proteinograma de los enfermos nefróticos, recayendo aquélla sobre la albúmina y alfa 2 globulina, cuyos resultados son unánimemente aceptados por todos los investigadores dado su hallazgo permanente y acusado.

La glomerulonefritis crónica con síndrome nefrótico, vascular, insuficiencia renal (grupo 4.°), nos presenta tanto en la proteinemia como en el proteinograma las mismas características que el grupo anterior, aunque de una manera menos acusada.

PROTEINURIA EN LAS GLOMERULONEFRITIS.—En el proteinograma se pone de manifiesto la preponderancia de la albúmina sobre las globulinas, por lo que el cociente A/G se presenta siempre elevado. La albuminuria más elevada corresponde a las formas agudas. Las fracciones globulínicas, muestran para la alfa 1 un aumento progresivo desde las glomerulonefritis agudas.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS PROTEINOGRAMAS DE SUERO Y ORINA EN LOS DIFERENTES GRUPOS. PROTEINEMIA.—Si consideramos las cifras totales de proteínas sanguíneas de los cuatro grupos, se comprueba que mientras en el 1.° y 2.° se mantienen en valores próximos a la normalidad, en los otros dos 3.° y 4.° se acusa un notable descenso. El fraccionamiento proteico pone de manifiesto dos formas de proteinograma perfectamente diferenciables entre sí; uno constituído por las glomerulonefritis crónicas hipertensivas uremígenas, y otro por las glomerulonefritis crónicas con componente nefrótico.

En el primero, que designamos como tipo A, la albúmina presenta una discreta disminución con respecto a las cifras normales, y de las globulinas únicamente la gamma aparece ligeramente elevada; las variaciones del cociente A/G son poco significativas.

El 2.° o tipo B, acusa unas cifras de albúminas francamente disminuídas, entre las globulinas la alteración más notable es la de la alfa 2, pues si bien se observa que los valores de la gamma son inferiores a los del grupo anterior, son las elevadísimas cifras alcanzadas por la alfa 2 las que ponen un sello característico a esta forma de proteinograma y por tal motivo el cociente albúmino globulina se muestra con una pronunciada inversión.

Dentro de los dos tipos que hemos diferenciado en el proteinograma del suero en las glomerulonefritis, las variaciones existentes entre los grupos constituyentes de cada uno son poco significativas para poder separarlas y hacer un diagnóstico diferencial.

PROTEINURIA.—El estudio comparativo del proteinograma de suero y orina puede servir para hacer un diagnóstico diferencial entre las glomerulonefritis aguda y la crónica sin componente nefrótico, ambas constituyentes y representadas por los grupos 1.° y 2.° del tipo A; posibilidad que consideramos

altamente interesante si como expusimos anteriormente el proteinograma sanguíneo ofrece datos poco significativos para diferenciarlas.

En el proteinograma urinario de las formas agudas se comprueba una elevación pronunciada de la albúmina, con bajo contenido de globulinas, mientras que en la forma crónica el contenido de albúmina es semejante al del suero con mayor contenido de globulinas. Las fracciones globulínicas que experimentan mayor aumento son las beta y gamma, y es precisamente esta última la que experimenta una mayor elevación en relación con el contenido en las formas agudas.

Las diferencias en el estudio comparativo del proteinograma de suero y orina entre las formas crónicas con síndrome nefrótico integrantes de los grupos 3.° y 4.° del grupo B son menos significativas. De todas maneras al ser más elevados los valores en suero de albúmina y alfa 2 globulina en los constituyentes del grupo 3.°, y manteniéndose aproximadamente iguales la concentración en orina en ambos grupos, las diferencias de estas fracciones en cada líquido son más acusadas en el grupo 3.°.

b) INSUFICIENCIA CARDIACA CONGESTIVA.—Han sido estudiadas las proteínas del suero y orina en seis enfermos en insuficiencia cardíaca. Los tipos de cardiopatías eran: un mitroaórtico, tres mitrales, un hipertenso y una aortitis luética.

Todos ellos han sido cuidadosamente seleccionados de manera que fueran excluídas cualquier enfermedad concomitante o en actividad y especialmente, enfermedad renal propiamente dicha. La proteinuria en estos casos hay que considerarla por tanto en relación directa con la insuficiencia congestiva secundaria a su cardiopatía.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
14	Suero	5'75	41'33	5'43	12'51	13'63	26'11	0'74
»	Orina	0'61	55'08	14'27	9'57	12'45	11'08	1'16

La proteinemia se caracteriza por una disminución de su cifra total con respecto a los porcentajes normales, alcanzando una cifra media de 5'75%.

Ortiz Vázquez [12], encuentra en sus casos un promedio mayor, de 6'85%; pero hay que tener en cuenta que en todos nuestros enfermos había edemas pronunciados, pues habían sido seleccionados para permitir su obtención por simple punción y la descompensación era intensa, con lo que hay que suponer que las diferentes causas que influyen en las alteraciones proteicas de estos enfermos, inapetencia, trastornos digestivos, participación hepática y el mismo papel considerable que pueda jugar el edema, contribuyen seguramente a acentuar las alteraciones proteicas.

La albúmina aparece francamente descendida. Hay una elevación de las cifras totales de globulinas sanguíneas y como consecuencia el cociente A/G se nos presenta francamente invertido. Las fracciones alfa 2 y beta se presentan aumentadas aunque no muy intensamente; elevación que, por otra parte, no es constante. La gamma globulina es la que aparece aumentada en todos los casos.

La proteinuria es discreta, con una cifra media de 0'74, lo cual concuerda

con las cifras de la literatura, que la consideran inferior a un gramo por mil. En el fraccionamiento proteico de la orina destaca únicamente el porcentaje alcanzado por la alfa 1 globulina.

El estudio comparativo de ambos proteinogramas destaca en primer lugar la elevación que presenta el cociente A/G en la orina, debido a la preponderancia de albúmina con respecto a las cifras del suero, así como la disminución de las cifras de globulinas que en general, excepto en el caso de la alfa 1, se encuentran en cantidades inferiores en comparación a los valores respectivos de cada fracción en el suero.

c) GESTACION.—Han sido estudiadas desde este punto de vista cuatro mujeres embarazadas, de las cuales dos corresponden a embarazo normal y otras dos son gestósicas.

A todas se las ha practicado el proteinograma del suero sanguíneo y a las gestósicas además el de orina.

Las dos embarazadas normales no presentaban enfermedad alguna concomitante con él; en ambas tanto la exploración clínica como los análisis efectuados podían considerarse dentro de la normalidad. Los dos casos con gestosis correspondían a embarazos a término. Una de ellas se encontraba en un estado de inminente preeclamsia, con abundante edema, la proteinuria era de 7'30 por mil y la tensión arterial de 18/11. La otra aunque de menor gravedad tenía un mal estado general, cefalea, edema, tensión arterial de 15'5/10 y proteinuria de 5'15 por mil.

VALORES PROMEDIOS
(Embarazo normal)

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
1	Suero	6'80	49'20	9'50	11'10	14'20	15'60	0'97
2	Suero	6'71	48'60	8'10	12'30	13'80	16'70	0'95

GESTOSIS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_1	α_2	β	γ	
2	Suero	4'60	35'80	9'40	24'30	14'90	14'80	0'56
»	Orina	6'22	63'00	13'50	7'50	10'30	7'70	1'75

La proteinemia en estos dos casos de embarazo normal se encuentra muy ligeramente disminuída. El fraccionamiento proteico nos muestra una disminución de la concentración de la albúmina, por lo que el cociente A/G está ligeramente disminuído. Las globulinas en conjunto aparecen aumentadas, correspondiendo este aumento principalmente a las alfa y beta, pudiendo considerar a la gamma dentro de los límites normales.

En la gestosis encontramos una franca disminución de las proteínas totales en suero. El proteinograma presenta comparándolo con el embarazo normal una hipoalbuminemia mucho más acentuada, mayor aumento de la cifra total de globulinas, y por tanto una inversión más marcada del cociente A/G. Los valores de la globulina alfa 1, ofrecen una pequeña variación, siendo la alfa 2 la que presenta un aumento considerable, dando al proteinograma una caracterización especial. La beta presenta gran semejanza con el embarazo normal en su concentración, y la gamma está ligeramente descendida.

El proteinograma urinario acusa una proteinuria de 6'22 por mil de promedio.

La proporción de las fracciones albúmino globulinas muestra una gran elevación del A/G, en comparación con el suero, y entre las globulinas destaca únicamente el predominio de la cifra de porcentaje de la alfa 1.

Las alteraciones del proteinograma que nos presenta el embarazo normal, ofrecen gran semejanza con las halladas por LAGERGRANTZ [13], quien las considera al igual que HEROL, HINSELMAN, SZONTAG, etc., debidas a un aumento de la permeabilidad capilar durante la gestación, hecho que para J. GRAS [14] hay que considerar como fisiológico "para facilitar los intercambios proteicos que tienen lugar entre madre y feto"; este aumento de permeabilidad supone un aumento del paso de las proteínas sanguíneas a los espacios intersticiales, lo cual ha sido demostrado por SZONTAG [15] mediante la prueba de LANDIS, y como dice LAGERGRANTZ explica perfectamente el tipo de proteinograma que presenta la embarazada, es decir, disminución de la albúmina, cuyo peso molecular ofrece mayores posibilidades de paso a través del capilar, y retención de las alfa y betaglobulinas, de mayor peso molecular.

Algunos autores, entre ellos G. ALVAREZ PITA [16], que estudian el proteinograma del embarazo dividiéndolo en tres trimestres, acusan dentro del mismo tipo de proteinograma obtenido por nosotros, una discreta disminución de la gamma globulina; hay que tener en cuenta que nuestras enfermas, una se encontraba en el último trimestre, y otra a término, y que según los trabajos de SAVI [17], es en el segundo trimestre de embarazo cuando se encuentra en el suero aumento de beta y más acusado de gamma, disminuyendo luego los valores de gamma en el tercero, durante el cual llegan a normalizarse o levemente aumentadas, persistiendo únicamente francamente elevada la beta.

Si consideramos el proteinograma del suero gestósico de nuestras enfermas podemos apreciar la semejanza de las cifras medias de porcentaje, comparadas con las mismas de la glomerulonefritis que hemos llamado mixta (englobada en el grupo 4.º); y no deja de ser interesante, a este respecto, considerar que los síntomas de edema e hipertensión que se reúnen en este grupo de glomerulonefritis son los característicos de la gestosis, juntamente con la proteinuria. Esto nos lleva a considerar la posible relación que debe existir entre cuadro clínico y modificaciones del proteinograma. Los hallazgos de MACY y MACK, así como los de LEGERGRANTZ y otros investigadores en el estudio comparativo del fraccionamiento electroforético del suero gestósico en relación con el embarazo normal coinciden con los nuestros: hipoproteinemia más acentuada, una mayor hipoalbuminemia con aumento de las globulinas, lo que trae como consecuencia una mayor inversión del cociente A/G, marcado aumento de las alfa globulinas, y disminución de la beta y gamma.

La proteinuria concuerda con la hallada en las glomerulonefritis crónicas con componente nefrótico: cantidad considerable de las proteínas totales, destacando en el fraccionamiento el marcado predominio de la alfa 1 globulina.

LAS PROTEINAS DEL SUERO Y LIQUIDO EDEMA EN LA INSUFICIENCIA CARDIACA CONGESTIVA

En este apartado de nuestra Memoria hemos estudiado 26 enfermos cardíacos en fase asistólica a los que hemos practicado separación electroforética de las proteínas del suero y del líquido edema, con el objeto de relacionar las concentraciones de las diferentes fracciones proteicas en ambos líquidos.

Los enfermos estudiados han sido seleccionados de tal manera que fuera descartada cualquier otra enfermedad concomitante capaz de modificar el cuadro proteico. El mayor porcentaje está representado por los cardiopatas valvulares en su fase cicatricial [15], otros 6, corresponden a cardioesclerosis en fase de descompensación; 2, corazones pulmonares; 2, hipertensos y una aortitis luética en fase inactiva.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Material	P. T.	Alb.	Globulinas				A/G
				α_2	α_1	β	γ	
26	Suero	5'81	42'70	6'85	11'43	12'82	25'33	0'77
»	Edema	0'38	55'95	10'35	7'14	10'82	15'41	1'37

Como puede apreciarse en el cuadro anterior las proteínas totales del suero están disminuídas, hecho observado por otros autores entre ellos Ortiz Vázquez y González Alvarez [18], si bien nuestras cifras son ligeramente inferiores; estos mismos investigadores [19], dan una cifra media en sus casos de 6'85 gr. %, y Freemann [20], 6'65 gr. %; pero hay que tener en cuenta que los primeros estudian únicamente la proteinemia en los cardíacos, y Freemann si bien estudia también las proteínas del líquido edema, en sus casos desecha aquellos cuyo contenido en proteínas en este líquido es inferior a 0'5 gr. %, mientras que nuestras cifras de proteinemia únicamente corresponden a aquellos cardíacos que era factible obtener líquido edema en cantidad suficiente para que la concentración final nos diera una cifra de proteínas aproximadas a las del suero. Ello fue únicamente posible en las asistolias extremas, en las que los fenómenos hipertensión venosa y de éxtasis alcanzaban máxima intensidad.

Esta variación de la proteinemia en los cardiópatas es puesta de manifiesto por Feruglio y Rimimini [21], que dan las cifras límites obtenidas en sus 20 enfermos estudiados, variables entre 8'28 y 4'60 gr. %.

El fraccionamiento electroforético nos muestra una marcada disminunución de la albúmina, con aumento de las globulinas totales, correspondiendo este aumento principalmente a la globulina gamma, cuya cifra media es de 25'33%. El resto de globulinas presenta discretísima elevación. Estos resultados coinciden en términos generales con los datos existentes en la bibliografía.

Estas alteraciones de las proteínas plasmáticas en la insuficiencia cardíaca congestiva hay que relacionarlas en primer lugar con el déficit de aporte al organismo, tanto por la inapetencia que suelen tener estos enfermos como por la alimentación caprichosa así como por la frecuente intolerancia y vómitos, alteraciones de la digestión y absorción intestinal propias de tales estados, además con las pérdidas

debidas al desplazamiento de las proteínas hacia el espacio intersticial contenidas en el abundante líquido edema. En el origen de las variaciones halladas en el porcentaje de las diversas fracciones debe influir de modo importante la llamada seudocirrosis hepática de los cardíacos, si se admite como parece lo más probable que el hígado representa el factor principal de la proteinopoyesis. También hay que relacionar con ella la elevación de la gamma globulina como sugiere la analogía de las características del proteinograma en los cirróticos.

LIQUIDO EDEMA.—Las cifras totales de proteínas suelen variar según la causa determinante del edema. En los cardiópatas suelen alcanzar valores inferiores que por ejemplo en los enfermos renales. FREEMANN [20], en dos determinaciones en enfermos con síndrome nefrótico, obtiene un valor de 2'2 y 2'3%, mientras que con el mismo método de determinación la cifra media registrada en tres cardíacos es de 0'65.

Las cifras estadísticas ofrecen bastante variación de unos casos a otros, y algunas veces dado el pequeño número de casos estudiados tampoco pueden ofrecer una sólida comparación. WUNDERLY y WUHRMANN [22], dan una cifra media de 1'3 gr. %, PETERS y VAN SLYKE, encuentran valores comprendidos entre 0'2 y 0'36%. WARREN [23], da como cifras medias en sus casos una comprendida entre 0'03 y 0'6%. La obtenida por nosotros coincide exactamente con la dada por BORKENSTEIN y STERZ como media en sus cinco casos estudiados.

Los resultados obtenidos para fracción albúmina concuerdan con los existentes en la literatura, dando un predominio a esta fracción sobre las demás, lo que hace que el cociente A/G se presente con una cifra media de 1'37. Este predominio de la albúmina es atribuído a su pequeño peso molecular (69.000), que le permite franquear fácilmente la pared representada por la membrana capilar.

Las globulinas en el líquido edema están representadas por las mismas cuatro fracciones encontradas en el suero, si bien con gran diferencia en sus porcentajes con respecto a éste. Estas diferencias han servido de base para explicar el mecanismo de paso de las proteínas del suero al espacio intersticial, y por tanto el de la génesis de los edemas. Como quiera que la fracción albúmina predomina de una manera constante sobre su correspondiente en el suero, y las fracciones globulínicas, en general acusan una menor concentración, se pensó que en el paso a través de la membrana capilar influía el peso molecular de la fracción proteica.

Nuestros resultados son concordantes con esta idea, si bien llama la atención el alto porcentaje alcanzado por la alfa 1 globulina del edema en relación con su correspondiente del suero. El predominio de esta fracción sobre su correspondiente en suero ha sido puesto de manifiesto en otros líquidos orgánicos; PELÁEZ y BORRASCA, en la orina de las nefritis crónicas, GONZÁLEZ PORTELA [24], en el líquido ascítico de enfermos cirróticos, de las hepatitis, en las ascitis por obstrucción coledocal, etc. BISERTE igualmente que nosotros, en el líquido edema, llegando a afirmar que la mayor parte de las proteínas de aquel líquido están representadas por la seroalbúmina y la alfa 1 glicoproteína de SCHULTZ, hecho que hemos podido confirmar como veremos más adelante en nuestras determinaciones del contenido en glicoproteínas del proteinograma.

Las alfas 2 globulinas, representan en nuestros cálculos el más bajo porcentaje de todas las fracciones del líquido edema, lo cual se puede explicar tanto por el tamaño como por la forma de su molécula, que hacen sea retenida intravascularmente por las dificultades opuestas a su paso por la pared capilar.

La beta globulina, como es lógico suponer por el tamaño de su molécula,

predomina en el suero con respecto al edema, pero no deja de ser llamativa la cifra media alcanzada en éste, 10'82%. Aunque BISERTE omite los resultados de su curva de electroforesis, por la altura alcanzada por esta fracción en comparación con el resto de fracciones globulínicas, parece concederle un valor no despreciable; llama sin embargo la atención al intentar la identificación de los constituyentes del suero en ella "que no se manifiesta en los diagramas ninguna fracción antigénicamente idéntica a las beta proteínas séricas". "Podemos preguntarnos, pues, si esta fracción no corresponderá más bien a lípido (lipopéptidos tisulares)". Con esta autorizada opinión queremos inclinarnos hacia la participación que estos proteidos puedan tener en las cifras alcanzadas en nuestros casos.

Nuestros resultados por lo que respecta a la gamma globulina del edema concuerdan con los encontrados en la literatura, si bien los más aproximados a los nuestros son los de FREEMANN.

Con objeto de obtener datos cuantitativos, supuesto el paso constante tanto fisiológico como patológico de las proteínas a través de los capilares glomerulares, así como a través del capilar al espacio intersticial, hemos determinado el "factor de permeabilidad" para las diferentes fracciones proteicas del plasma en relación con las correspondientes de orina y líquido edema, basados en los trabajos de LAMBERT, GREGOIRE y MALMENDIER [25], sobre permeabilidad glomerular de diversas sustancias, los cuales les permiten sacar la conclusión que se pueden aplicar a la filtración glomerular de sustancias proteicas las leyes de la difusión y filtración a través de membranas inertes de estructura porosa. Estos investigadores denominan "Sieving", o factor de tamizaje, a la relación de la concentración de una proteína en el filtrado con la concentración de esta proteína en el plasma. El "Sieving coefficient", refleja la dificultad que encuentran las moléculas gruesas para atravesar los poros capilares y por tanto la retención que experimentan.

Aunque los resultados obtenidos no se puedan tomar como valores absolutos, si nos pueden facilitar unas cifras que nos sirvan de orientación de la capacidad de filtración de la pared capilar para las diferentes fracciones proteicas.

En nuestros resultados destacan tanto en la orina como en el líquido edema de una manera patente la permeabilidad aumentada tanto para la albúmina como para alfa 1 globulina, cuyos valores, si bien varían en las diferentes afecciones son superiores a la unidad, mientras que es inferior para el resto de las fracciones globulínicas.

GLICOPROTEINAS.—Hemos estudiado el glicidograma del suero, orina y líquido edema para intentar de aclarar en parte nuestros resultados del estudio comparativo de proteinograma del suero con estos líquidos orgánicos.

Examinando los resultados obtenidos en el proteinograma de estos líquidos, así como el llamado factor de permeabilidad capilar, nos explicamos en parte la distribución de cada fracción dentro y fuera del capilar, por la influencia representada por la membrana. Esta permite el paso en mayor proporción de la sero-albúmina de peso molecular inferior (69.000), reflejado en el valor superior a la unidad del factor de permeabilidad, y dificultando el de las globulinas, de mayor peso molecular con factor de permeabilidad que es inferior a la unidad.

Dentro de las fracciones globulínicas nos llama la atención el alto valor de dicho factor para la alfa 1 globulina, superior a la unidad, e inclusive superior también al obtenido para la albúmina algunas veces, a pesar de su mayor peso molecular (200.000). Con la finalidad de esclarecer la influencia que pudieran tener las glicoproteínas, cuyo peso molecular es de 30.000 a 40.000, estudiamos en este sentido un grupo de nuestros enfermos practicando al

mismo tiempo que el proteinograma del suero y líquido correspondiente el glicidograma.

Han sido estudiados 16 enfermos, de ellos 10 cardíacos descompensados. Los 6 restantes son enfermos con proteinuria, 4 por nefropatía y 2 por riñón de éxtasis. A continuación exponemos los resultados obtenidos, determinando los valores promedios únicamente en los cardiopatas, dado que en el resto, por ser diferente la enfermedad fundamental, así como el escaso número de alguno de ellos hemos omitido la determinación.

VALORES PROMEDIOS

Casos	Determinación	Material	P. T.	Alb.	Globulinas			
					α_1	α_2	β	γ
10	Protein.	Suero	5'57	41'55	7'72	11'06	13'47	25'19
»	Glicidgr	»		5'60	27'99	38'80	21'65	4'97
»	Protein.	Edema	0'31	50'69	12'57	8'11	11'39	15'72
»	Glicidgr	«		3'18	54'32	17'80	14'40	2'17

Las cifras de porcentaje del glicidograma del suero tanto en los enfermos postadores de proteinuria como en los edematosos, se reparten los valores más elevados las fracciones alfa 2, alfa 1 y beta globulinas por orden de prelación, mientras que las fracciones albúmina y globulina gamma acusan en general valores bastante inferiores. En el glicidograma de la orina, así como podemos observar en el líquido edema destaca en todos los casos la riqueza en glicoproteidos de la alfa 1 globulina, siguiéndole la alfa 2, y beta y en cantidades inferiores la albúmina y gamma globulina.

Para explicar el predominio de la alfa 1 globulina de la orina normal sobre su correspondiente fracción del suero Rigas y Heller [26], así como McGarry, Sehon y Rose [27], apuntaron la posibilidad de que la constitución glicoproteica de esta fracción juegue cierto papel en su preponderancia. Peláez y Borrasca explican el predominio de la alfa 1 globulina de la orina en las nefritis por estas tres posibilidades: a) adición de alfa 1 en las vías urinarias, sobre todo en forma de mucoproteínas, b) déficit específico de reabsorción tubular de alfa 1, c) adición tubular de esta globulina.

Es muy posible que todas estas circunstancias anteriormente apuntadas puedan contribuir en el valor obtenido por esta globulina en la orina; pero pensando en el pequeño peso molecular de las glicoproteínas, cuyo desplazamiento electroforético con esta fracción está demostrado, se puede considerar igualmente plausible, que el gran predominio de estos proteidos en la alfa 1 de los líquidos estudiados se deba a su procedencia del plasma, ya que su paso a través de la pared capilar se encuentra facilitado.

Podría caber la posibilidad de que la alfa 1 globulina del edema, estuviera representada en gran parte por glicoproteínas aportadas por el tejido conjuntivo del tejido celular subcutáneo, en este sentido son interesantes los resultados aportados por Biserte [28], en el simposio sobre edemas celebrado en Lille. Este autor, además de estudiar el glicidograma del fraccionamiento proteico en el edema, hace un estudio cualitativo de sus componentes séricos utilizando inmunosueros específicos de estas proteínas y llegando a demostrar de una manera clara la identificación de la alfa 1 globulina sérica en el líquido edema de la insuficiencia cardíaca congestiva. Como quiera que obtiene idén-

ticos resultados en líquidos edemas de otras enfermedades, cree finalmente que el mecanismo patogénico de paso de las moléculas proteicas a través de la membrana capilar sea el mismo.

A la vista de los resultados anteriormente expuestos, creemos haber establecido claramente la riqueza en glicoproteínas de la fracción alfa 1, tanto de la orina como del líquido edema. En virtud de los estudios inmunológicos de BISERTE anteriormente expuestos, sobre esta fracción globulínica, nos adherimos sin género de dudas a la procedencia al menos en gran parte, de la fracción alfa 1 globulina del líquido edema a partir de la correspondiente del suero. De esta manera sin excluir la posibilidad por lo que respecta a la orina, de que en alguna cantidad esta fracción pueda estar constituída por glícidos sobreañadidos en las vías urinarias, creemos que en su mayor parte puede ser, lo mismo que la del edema de naturaleza sérica.

Podemos concluir que los componentes proteicos, tanto de la orina como del líquido edema, tienen una concentración diferente que sus correspondientes fracciones en el suero, diferencia relacionada directamente con la membrana capilar, la que actuando a manera de filtro es atravesada más fácilmente por las proteínas que tanto por su peso molecular como por la configuración que poseen son más difusibles.

De esta manera nos explicamos la preponderancia de la albúmina y los valores inferiores de las globulinas, cuya preponderancia en el suero es debido a su retención por mayor tamaño molecular, con excepción de las glicoproteínas alfa 1, que como sabemos poseen un peso molecular inferior inclusive a la albúmina, pero cuya constitución glicoproteica hemos puesto de manifiesto.

CONCLUSIONES

I. PROTEINAS EN LA GLOMERULONEFRITIS

A) Glomerulonefritis aguda. Las proteínas totales del suero sanguíneo acusan una ligera disminución. El fraccionamiento electroforético de estas proteínas nos muestra una ligera disminución de la albúmina y entre las globulinas es la gamma la que presenta discreto aumento de una manera constante. En el proteinograma urinario encontramos las mismas fracciones que en el suero, destacando el alto porcentaje alcanzado por la albúmina, cuya cifra media se reparte las 3/4 partes del total de porcentaje, lo que hace que el cociente A/G se nos presente francamente elevado.

B) Glomerulonefritis crónica con hipertensión y elevación de las cifras de urea sanguínea, pero sin componente nefrótico. La proteinemia muestra cifras ligeramente inferiores a los valores normales, e igualmente el cociente A/G. Los porcentajes de las diversas fracciones son semejantes a los de las formas agudas; discreta disminución de la albúmina y elevación ligera de las globulinas, siendo la más marcada y constante la gamma. En la orina la cifra media de proteínas totales encontrada es de 3'35 por mil; hay un predominio de la albúmina y alfa 1 globulina con respecto a los porcentajes del suero; las restantes están disminuídas.

C) Glomerulonefritis crónica con componente nefrótico, sin hipertensión ni insuficiencia renal. La proteinemia está francamente disminuída (media 4'45%). El fraccionamiento de estas proteínas nos muestra una pronunciadísima hipoalbuminemia, con la consiguiente inversión del cociente A/G, y aumento de las globulinas a expensas principalmente de la alfa 2 que adquiere un valor medio de 32'63%. La proteinuria es elevada (media 7'25 gr. mil), observándose en el proteinograma un predominio de la albúmina y alfa 1 globulina sobre los valores del suero, siendo inferiores para el resto de las globulinas.

D) Glomerulonefritis crónica con componente nefrótico e insuficiencia renal. El tipo de proteinograma obtenido es semejante al de la forma anterior, si bien la hipoproteinemia, la hipoalbuminemia y el aumento de la alfa 2 globulina son menos acusadas. En la orina también encontramos resultados similares, aunque la proteinuria es inferior e igualmente la diferencia de porcentajes de las diversas fracciones con respecto al suero.

II. El fraccionamiento del suero en las glomerulonefritis nos pone de manifiesto dos formas de proteinograma perfectamente diferenciables entre

sí; una que hemos denominado "Tipo A", que comprende las glomerulonefritis agudas y crónicas sin componente nefrótico, cuyas características esenciales serían discreta hipoalbuminemia y aumento de la gamma globulina, y el "Tipo B", que comprende las glomerulonefritis crónicas con componente nefrótico, caracterizadas por intensa hipoalbuminemia e hiper alfa 2 globulinemia, con la consiguiente inversión del cociente A/G.

III. El estudio comparativo del proteinograma del suero y orina, nos sirve para diferenciar entre sí las glomerulonefritis comprendidas en el "Tipo A". En la glomerulonefritis aguda destaca el proteinograma urinario por su alto contenido en albúmina y valores bajos para las globulinas, mientras que en la crónica el contenido de albúmina es semejante al del suero, con mayor contenido de globulinas, siendo la globulina gamma la que experimenta mayor elevación porcentual. Las glomerulonefritis comprendidas en el "Tipo B", no nos presentan en el estudio comparativo de los proteinogramas de suero y orina puntos firmes de apoyo para su diferenciación, ya que el tipo es el mismo, variando únicamente la diferencia de porcentajes.

IV. La proteinuria en la insuficiencia cardíaca congestiva es escasa, con una cifra media de 0'61 por mil. El fraccionamiento proteico en comparación con el del suero nos acusa un mayor porcentaje para la albúmina y menor para las globulinas, con excepción de la alfa 1, cuyos valores en orina son superiores a los del suero.

V. PROTEINAS EN EL EMBARAZO

A) En el embarazo normal. La proteinemia se encuentra dentro de los límites fisiológicos. En el fraccionamiento proteico encontramos una ligerísima disminución de la albúmina y aumento discreto de globulinas, a expensas principalmente de las alfa y beta.

B) En la gestosis. La proteinemia está francamente disminuída en comparación con el embarazo normal, así como la albúmina. El cociente A/G, está intensamente invertido. Entre las globulinas destaca el aumento de la alfa 2. En el fraccionamiento de las proteínas urinarias, únicamente los porcentajes de albúmina y alfa 1 globulina son superiores a los del suero.

C) Encontramos una gran semejanza entre los proteinogramas del suero en la gestosis y la glomerulonefritis crónica mixta.

VI. LAS PROTEINAS DE SUERO Y EDEMA EN LA INSUFICIENCIA CARDIACA CONGESTIVA

A) La proteinemia en estos enfermos presenta una discreta disminución de su cifra total. El proteinograma del suero se caracteriza por presentar hipoalbuminemia, inversión del cociente A/G, ligerísimo aumento de las alfa y beta globulinas y pronunciado de la gamma.

B) El líquido edema nos arroja una cifra media de proteínas de 0'38%. En el fracionamiento proteico encontramos las mismas cinco fracciones que en el suero, si bien existen diferencias en cuanto al porcentaje. Constantemente aumentada está la albúmina, por lo que el cociente A/G es superior en el edema; las globulinas están disminuídas con excepción de la alfa 1 cuyo

porcentaje es superior al del suero. Estas variaciones las ponemos de manifiesto de una manera cuantitativa hallando el "Factor de permeabilidad", el cual nos muestra valores superiores a la unidad para la albúmina y alfa 1, mostrando valores inferiores la alfa2, beta y gamma globulina.

VII. La alfa 1 globulina, en nuestros casos estudiados, se nos presenta tanto en la orina como en el líquido edema con porcentajes superiores a los respectivos del suero. Estos resultados en casos similares han sido puestos de manifiesto por otros autores para la orina; no así para el líquido edema, excepto BISERTE quien, como nosotros puso de manifiesto su preponderancia en este líquido y demostró su procedencia del suero. Hemos estudiado particularmente esta proteína desde el punto de vista de su componente en glícidos, obteniendo una cifra de porcentajes en el edema superiores al 50% del total de glicoproteínas, siguiéndole la alfa 2 y beta, con valores inferiores para la albúmina y globulina gamma.

VIII. Vista la diferencia de porcentaje entre las fracciones proteicas del suero y las correspondientes de orina y líquido edema, podemos explicarnos el paso de las proteínas a través de las capilares del glomérulo y del espacio intersticial por una filtración con arreglo a su configuración y peso molecular, con mayor facilidad para el tránsito de albúmina y retención de globulinas. El predominio de porcentaje de la fracción alfa 1 en ambos líquidos sobre el correspondiente del suero se puede explicar por su riqueza en glicoproteidos, cuya configuración y peso molecular encuentra facilitado el paso a través de la membrana capilar.

BIBLIOGRAFIA

1. PATTE, J. C., BALDASSAIRE, G., y LORET, J.—"Etudes Clin. et Biol.", III, 960-1958.
2. GRASSMANN, W., y HANING, K.—"Naturwis", 37, 496-1950.
3. LAURELL, y SKOOG.—*Symposium de electroforesis sobre papel.* Editorial Vergara, pág. 57-1958.
4. DÍAZ, R. M., y JANER, V. C.—"Rev. Clín. Esp.", 60, 78-1956.

4 bis. DÍAZ, R. M., y SEGOVIA, F.—"Rev. Clín. Esp.", 70, 209-1958.

5. PELÁEZ, J., y BORRASCA, A.—"Rev. Clín. Esp.", 32, 18-1959.
6. MARILYN, G. FARQUHAR.—*Symposium on salt and woter retention.* Philadelphie and London, pág. 504-1960.
7. THORN, G. W., ARMSTRONG, S. H., DAVENPORT, V. D., WOODRUFF, L. M., y TYLER, F. H.—"J. Clín. Invest.", 24, 802-1945.
8. ROUTH, J. J., KNAPP, E. L., y HOTAYASHI, C. H.—S. Pedriatr.", 33, 688-1951 (Citado por GRAS).
9. WUHRMANN, F., y WUNDERLY, CH.—*Las proteínas sanguíneas,* pág. 324-1954.
10. PARDELLI, G.—"Minerva. Nefrol.", 4, 115-1957.
11. SALVINI, L. and VERDI, G.—"Arch. Stud. Fisiopatol.", 20, 746-1956.
12. ORTIZ, VÁZQUEZ, J., GONZÁLEZ, A., y OTERO, G.—"Rev. Clín. Esp.", 15, 42-1953.
13. LAGERCRANTZ, C.—"Upsala. Lak. Forën. Forh.", 51, 117-1945.
14. GRAS, J.—*Las proteínas plasmáticas,* pág. 174-1956.
15. SZONTAG, F. E.—"Gynaecologia", 127, 240-1949.
16. ALVAREZ, P. G.—"Rev. Clín. Esp.", 69, 343-1958.
17. SAVI, C.—"Rev. Ital. Ginec.", 41, 87-1958.
18. ORTIZ, VÁZQUEZ, J., GONZÁLEZ, A., y OTERO, G.—"Rev. Clín. Esp.", 15, 42-1953.
19. ORTIZ, VÁZQUEZ, J., GONZÁLEZ, A., y OTERO, G.—"Rev. Clín. Esp.", 24, 52-1954.
20. FREEMANN, T. and JOEKES, A.—"Acta. Med. Ecand.", 153, 243-1956.
21. FERUGLIO, F. S., y RIMIMINI, R.—"Minerva Med.", 1, 2-1956.
22. WUNDERLY, CH., y WUHRMANN, F.—"Plasma", 1, 27-1953.
23. WARREN, J. V.—"J. Clín. Invest.", 23, 283-1944 (Citado por P. LAMBERT).
24. GONZÁLEZ, J. M.—Tesis doctoral, 1958.
25. LAMBERT, P. P., GREGOIRE, F., MALMENDIER, C.—"Rev. Franc. Etudes. Clín. et Biol.", II, 15-1957.
26. RIGAS, D. A., y HELLER, C. G.—"J. Clín. Invest.", 30, 853-1951.
27. MCGARRY, E., SEHON, A. H., y ROSE, B.—"J. Clín. Invest., 34, 832-1955.
28. BISERTE, G., HAVEZ, R., y MERLEN, J. F.—"Lille Médical.", V, 3-1960.

MODIFICACIONES DEL IRIS A LOS ESTÍMULOS LUMINOSOS. SUSTANCIAS MIÓTICAS Y MIDRIÁTICAS

POR

JUAN ANTONIO GONZÁLEZ MARTÍN

EL OJO Y SU DISECCION

El material con el que hemos realizado nuestras pruebas ha sido el ojo de ganado ovino, específicamente de cordero. Las dimensiones de los ojos de cordero están en muy buena relación con todo el conjunto de aparatos, que hemos construído para nuestras experiencias y también con las de la célula fotoeléctrica que poseemos.

Siempre hemos procurado recoger ojos recientes, de animales recién sacrificados, cuando todavía no había ocurrido la muerte vegetativa.

Acto seguido eran preparados para las pruebas, de tal manera que todas ellas han sido realizadas antes de las tres horas a partir del momento en que se sacrificaba el animal.

La preparación, o mejor dicho, la colocación del ojo, la he realizado sujetando el globo ocular íntegro, previamente desprovisto de sus músculos extrínsecos y del tejido subyacente, a un anillo de plástico duro y opaco.

Este anillo con su orificio esférico y central de 22 milímetros de diámetro está rodeado por ocho agujeros, a los cuales sujetamos con punto de sutura, que sobre esclerótica y a dos o tres milímetros del limbo esclero-corneal es realizada, con agujas oftalmológicas y con hilo de color negro y resistente. Para mayor fijación damos nudo de cirujano, quedando, pues, bien centrado el eje antero-posterior del globo ocular con el orificio esférico del anillo y a la vez sin movimiento alguno.

Con esta disposición se ve perfectamente, por la parte posterior del anillo, la esclera y el polo posterior del ojo, y por la parte interior la córnea con el limbo, sobresaliendo éste último un poco por el orificio del anillo.

Después de esta fijación, realizamos una punción amplia sobre córnea, mediante el cuchillete de catarata o de Greefe, dando salida al humor acuoso, lo que favorece las posteriores maniobras, porque la córnea al faltarle el humor acuoso se adapta al iris y pupila, sirviéndonos de esta forma la misma córnea de protección y evitando la luxación del cristalino hacia el exterior, como consecuencia del aumento de la presión sobre el vítreo en las manipulaciones siguientes.

Sacado ya el líquido acuoso, procedemos a eliminar la parte posterior de esclera, juntamente con el vítreo y retina, es decir, todo el polo posterior del globo ocular.

Para ello, con el mismo cuchillete de Greefe damos un corte amplio en esclera hasta llegar al vítreo, y perpendicular al eje antero-posterior. A partir de esta abertura y a punta de tijera fina y cortante, siguiendo todo el meridiano del ojo, separamos la parte posterior del mismo.

Su separación requiere paciencia, especialmente al separar el humor vítreo del cristalino, maniobra la más delicada, porque el humor vítreo se desprende

fácilmente de las capas que lo envuelven. como retina, no sucede así con el cristalino y el cuerpo ciliar. Colocado en posición tal que el humor vítreo quede colgado, y favorecido su desprendimiento por su propio peso, con un objeto romo, que hacemos pasar varias veces por los sitios donde parece estar más adherido, conseguimos su separación. Habiendo puesto sumo cuidado para que la cristaloide posterior no se lesione lo más mínimo, ni parte alguna de la zónula se desprenda.

Una vez realizada la extirpación del polo posterior, continuamos con la total extirpación de la córnea; para ello colocamos el ojo en la misma posición anterior, pero con la diferencia de que nuestra tracción es ejercida hacia arriba, opuesta a la acción de la gravedad y por consiguiente, al peso del cristalino e iris. Sujetamos la córnea con unas pinzas finas y tirando de ella, logramos una buena separación de córnea y restantes tejidos, suficiente para extirpar a punta de tijera toda la córnea, sin tocar nada el iris ni al cristalino.

Verificado todo esto, hemos conseguido conservar íntegro el auténtico y verdadero diafragma ocular: el iris con su pupila, el cristalino en su sitio, y músculo ciliar y la zónula sin la menor lesión, dispuesto para realizar nuestras pruebas.

Por último describiremos la maniobra que elimina el cristalino, dejando como diafragma solamente el iris. Para ello actuamos por la cara posterior con unas pinzas finas, rompiendo las fibras de la zónula poco a poco, y colocado en posición vertical para que el peso del cristalino sea factor que influya en la rotura de fibras. Rotas las primeras fibras zonulares, se le va dando al cristalino ciertas posiciones con unas pinzas hasta ser rotas lentamente todas las fibras zonulares.

Este material es introducido en una cubeta opaca, ideada por nosotros de tal manera, que será el soporte donde permanecerá el diafragma ocular durante las pruebas; para ello dicha cubeta está atravesada en sus paredes anterior y posterior por un orificio circular cuyo diámetro es de 22 milímetros. En dichos orificios van colocados sus respectivos cristales planos, para que a través de ellos pasen los rayos luminosos.

Los rayos de luz que proyectamos sobre el diafragma ocular, son los emitidos por una bombilla de 125 v. y watios 5. Situada a una distancia de diez centímetros del diafragma ocular que se encuentra sumergido en líquido tyrode de mamífero y oxigenado.

Los rayos luminosos que el diafragma deja pasar llegan a la célula foto-eléctrica de la General Eléctrica cat: 88 x 565 y colocada a quince centímetros. El impacto de los fotones determina la aparición de una corriente eléctrica continua cuya intensidad se registra por las variaciones en un galvanómetro de la casa Kipp Delpt-Hollavd, tipo A. 70. Su escala nos viene dada en milímetros la desviación originada por diferencias de corriente, para posteriormente ser traducidas en microamperios, según tabla de la casa.

La parte del ojo sobre la que hemos realizado nuestras pruebas es precisamente la llamada diafragma ocular; por dejar pasar una cantidad de luz que es regulada por los siguientes elementos del ojo: 1.º Por la función o mecanismo del iris. 2.º Por el cristalino que también la modifica, por ser una lente en que sus caras anterior y posterior no son iguales, y su constitución es también variable, especialmente en relación con la edad del animal. Y 3.º el músculo ciliar, cuyo funcionamiento puede repercutir sobre los otros dos factores, muy particularmente sobre el cristalino.

Prescindimos en nuestras pruebas de la acción física, mecánica y química que el humor acuoso, córnea y vítreo pudieran tener, sobre el funcionamiento de los elementos antes dichos "in vivo" al ser suprimidos de nuestra preparación.

Hemos realizado pruebas con los tres elementos y en las que previamente

suprimimos el cristalino. En cada uno de estos dos grupos, hemos realizado dos clases de pruebas: unas que pudiéramos llamar según la regla, cuando mandamos la luz sobre el ojo, como éste la recibe en vivo, es decir, hacia la cara anterior del iris; y otras contrarias a la regla, en las cuales proyectamos la luz en la dirección opuesta, es decir, pasando la luz primero por el cristalino y luego por la pupila.

Se ha tomado nota de las modificaciones registradas por el galvanómetro al empezar las pruebas, a los cinco, diez, quince y veinte minutos. Así lo indicamos en los cuadros; en todas nuestras pruebas he tomado estas cinco anotaciones y por tanto sobre ellas basamos nuestros resultados.

Al realizar las pruebas con los distintos fármacos empleados, lo hemos hecho mediante la concentración deseada en el líquido tyrode; así hemos trabajado con concentraciones de 1, 5, 10, 50 y 100 microgramos por c.c.

Igualmente hemos tenido presente la temperatura a que se han realizado las pruebas y para ello, las hemos tomado al empezar, a los diez y veinte minutos, como especificamos en cada determinación.

De las cinco cifras tomadas durante los veinte minutos de tiempo, la tomada al empezar, considero no debe tenerse en cuenta, ya que después de las manipulaciones de disección que hemos dicho, la pupila puede quedar más o menos dilatada; ello nos da esa irregularidad que en los cinco primeros minutos observamos en algunas pruebas.

Las diferencias que hay en las cifras de unas pruebas a otras, pensamos obedece a los distintos tamaños y capacidad de reaccionar la pupila. Así tenemos que a mayor edad, sus vasos están más esclerosados y sus células van perdiendo sensibilidad. El cristalino más endurecido y opaco en función de la edad y el músculo ciliar más atrófico. Además por ser músculos lisos, en edad joven su formación y maduración puede ser distinta.

RESULTADOS OBTENIDOS CON SOLAMENTE LIQUIDO TYRODE

Primeramente hemos realizado pruebas con solo líquido tyrode, colocado todo en las mismas condiciones que después se realizan las restantes pruebas: líquido tyrode 20 c.c. oxigenándose constantemente y a la temperatura que anotamos, siendo siempre la misma para las diferentes pruebas.

Así preparado todo, anotamos las cifras que obtenemos en microamperios, resultado de las modificaciones de la corriente eléctrica, que nos produce la célula fotoeléctrica al ser impresionada por la luz de bombilla, después de atravesar los diferentes medios.

Tiempo.	0 min.	5 min.	10 min.	15 min.	20 min.
Temperatura	20°		25°		30°
	1911	1911	1911	1911	1911.
	1969	1940	1940	1940	1940.
	1999	1955	1955	1955	1955.
	1984	1984	1984	1984	1984.
	1911	1955	1955	1955	1955.
	1940	1911	1911	1911	1911.
	1984	1984	1984	1984	1984.
	1955	1970	1970	1970	1970.
	1955	1955	1955	1955	1955.
	1911	1911	1911	1911	1911.
	1926	1926	1926	1926	1926.

Tiempo.	0 min.	5 min.	10 min.	15 min.	20 min.
Temperatura	20°		25°		30°
	1940	1911	1911	1911	1911
	1940	1940	1940	1940	1940.
	1984	1984	1984	1984	1984.
	2028	1970	1970	1970	1970.
	2000	1955	1955	1955	1955.
	1926	1970	1970	1970	1970.
	1984	1955	1955	1955	1955.
	1940	1940	1940	1940	1940.

Se caracterizan estos resultados con líquido solamente, en que los distintos períodos de tiempo en que tomo nota, a excepción de la inicial, es la misma cifra obtenida, es decir, la misma intensidad de corriente la registrada en el galvanómetro, durante los 20 minutos que duran nuestras pruebas. Esto nos dice que cualquier alteración obtenida, obedecerá a los medios que en las diferentes pruebas colocamos y nada al líquido tyrode, ni foco luminoso, ni temperatura.

RESULTADOS OBTENIDOS CON OJO IN VITRO SIN FARMACOS

1.° *CARA ANTERIOR.*

A) *Diafragma íntegro.*—En estas pruebas introducimos en la cubeta, el diafragma íntegro: el iris con su pupila, el cristalino en su sitio, músculo ciliar y zónula sin la menor lesión; colocado en ella de manera que la luz la recibe por cara anterior, obteniendo el siguiente resultado:

Tiempo min.	0	5	10	15	20
Temperatura	20°		25°		30°
	441	441	514	573	580.
	550	779	842	882	882.
	632	690	749	764	764.
	558	661	676	676	690.
	690	823	867	896	940.
	469	543	543	558	573.
	603	632	676	690	720.
	264	352	426	441	483.
	267	397	441	441	441.
	588	704	793	842	856.
	338	397	411	455	485.
	632	690	740	763	750.
	793	888	955	999	1043.
	698	750	779	808	838.
	647	808	852	882	911.
	691	764	838	882	904.
	720	735	735	750	750.
	661	661	691	691	691.
	941	941	970	985	985.
	764	779	838	867	897.
	794	794	838	926	926.

B) Por la misma cara anterior pero sin cristalino obtenemos:

Tiempo min.	0	5	10	15	20
Temperatura	20°		25°		30°
	588	558	544	503	647.
	764	779	808	823	823.
	647	661	691	705	713.
	617	647	691	720	720.
	705	779	808	838	882.
	661	705	750	750	750.
	279	223	441	470	500.
	632	750	779	786	786.
	573	647	676	676	676.
	661	677	691	691	691.

2.° *CARA POSTERIOR.*

A) *Diafragma íntegro.*—En estas pruebas introducimos el diafragma ocular de manera que sea atravesado por los rayos luminosos pasando primero por el cristalino y después por la pupila, teniendo las siguientes cifras:

Tiempo min.	0	5	10	15	20
Temperatura	20°		25°		30°
	514	588	588	588	588.
	632	691	691	691	691.
	588	603	603	603	603.
	514	753	573	573	573.
	514	558	558	558	558.
	632	676	676	676	676.
	794	823	823	823	823.
	603	632	632	632	632.
	382	426	426	426	426.
	500	603	603	603	603.
	514	603	603	603	603.
	220	235	235	235	235.
	382	412	412	412	412.
	441	500	500	500	500.
	603	647	647	647	647.

B) Por la cara posterior y sin el cristalino tenemos las cifras que siguen:

Tiempo min.	0	5	10	15	20
Temperatura	20°		25°		30°
	955	941	941	941	941.
	470	412	412	412	412.
	617	617	617	617	617.
	647	647	603	603	603.
	514	412	412	412	412.

Tiempo min.	0	5	10	15	20
Temperatura	20°		25°		30°
	544	529	514	514	514.
	412	456	456	456	456.
	588	583	588	588	588.
	382	367	367	367	367.
	441	412	412	412	412.

En estas pruebas realizadas con el diafragma ocular, "in vitro" y sin fármaco alguno, obtenemos unas corrientes debidas a las modificaciones de luz que el mencionado diafragma permite pasar a su través, durante los 20 minutos y a las temperaturas mencionadas.

Para su consideración mencionaremos primeramente por cara anterior, donde vemos que la corriente que registra el galvanómetro van siendo mayores según pasa el tiempo, luego el diafragma ocular sufre una midriasis por efecto de la luz.

El observar una pupila dilatada, nada de extraño seria, por tener el diafragma ocular denervado totalmente, pero que la luz vaya produciendo dilatación según pasa el tiempo de su acción, ya nos hace pensar que existe en dicha cara anterior del iris algún receptor de los rayos luminosos que obra o tiene acción ya directa o indirectamente sobre el funcionamiento del esfínter iriano.

Por la misma cara anterior, pero sin el cristalino para evitar las alteraciones que éste pudiera tener sobre los rayos luminosos, quedando solamente como diafragma el iris a los efectos de la luz, vemos que según pasa el tiempo las cifras ascienden, igual que con el cristalino, sin embargo las cifras son mayores posiblemente por faltarle el efecto convergente de la lente cristalina.

Por la cara posterior con el diafragma íntegro observamos que las cifras de los microamperios son constantes en todos los períodos de tiempo, lo que nos indica que no hay modificación en el diámetro pupilar al recibir la luz por la cara posterior. ¿Por qué ésto?; simplemente porque la cara posterior del iris está cubierta por la capa pigmentaria de la retina y que este epitelio pigmentario absorbe la luz y sus dos capas de pigmentos impiden se capten por pigmentos especiales o elementos nerviosos sus desequilibrios eléctricos, excepción en la porción interna recubierta por los conos y bastones de la retina.

Sin el cristalino por la cara posterior, vemos igualmente que las cifras son constantes en todos los períodos de tiempo.

También hay que tener en cuenta que en estas pruebas hemos suprimido la acción de absorción, transmisión, reflexión y refracción que ejerce el cristalino sobre los rayos de luz.

Por todo ello comprobamos, que la luz sobre cara anterior de iris "in vitro" produce una midriasis en relación con el tiempo que sobre él actúa. Nos la explicamos pensando que los únicos elementos existentes en el iris y muy sensibles a la luz, son los cromatoforos existentes en la cara anterior.

RESULTADOS UTILIZANDO ATROPINA (Sulfato)

1.° *CARA ANTERIOR.*

A) Diafragma íntegro.—Los resultados que hemos obtenido en estas pruebas, en que el funcionamiento del diafragma ocular está bajo la acción del sulfato de atropina en distintas concentraciones y la luz dirigida hacia su cara anterior son:

Sin fármacos						Con fármacos				
Tiempo	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°	20°		25°		30°
	632	705	735	764	794.	764	867	867	838	838.
	557	588	603	588	588.	529	603	647	647	647.
	575	676	735	735	735.	602	779	808	808	808.
	600	676	735	823	823.	852	897	897	897	897.
	558	558	573	573	573.	676	676	706	735	735.
	340	322	241	353	355.	508	500	511	511	511.
	617	588	588	588	588.	808	779	779	779	779.
	691	735	764	852	852.	897	897	897	897	897.
	600	676	735	823	823.	808	823	823	823	823.
	558	558	573	573	573.	676	676	705	705	705.
	600	750	792	823	869.	838	868	868	868	868.
	294	309	338	367	404.	456	514	514	514	514.
	646	764	808	838	882.	882	897	911	911	911.
	646	808	852	852	852.	852	852	882	882	882.
	588	617	617	646	646.	676	691	691	691	691.

1 micrgrm. por c.c.

5 micrgrm. por c.c.

10 micrgrm. por c.c.

50 micrgrm. por c.c

100 micrgrm. por c.c

B) Cara anterior sin el cristalino. En ellas podemos ver las acciones de la atropina directamente sobre el iris, faltándole a éste todo apoyo o influencia que sobre él ejerciera el cristalino, así tenemos:

Sin fármacos						Con fármacos				
Tiempo	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°	20°		25°		30°
	985	970	955	955	955.	1044	1102	1087	1087	1087.
	630	632	632	647	668.	735	764	779	808	808.
	985	985	1000	1000	1000.	1043	1043	1058	1058	1058.
	617	647	661	680	680.	691	661	688	688	688.
	488	544	544	600	641.	490	558	560	626	650.
	632	750	779	794	794.	853	882	897	911	911.
	588	588	588	590	600.	632	632	627	627	627.
	485	456	560	573	603.	573	588	661	691	691.
	764	779	808	823	823.	823	853	867	882	882.
	647	663	691	705	705.	676	735	735	735	735.
	764	779	823	838	808.	852	852	852	852	852.
	588	620	690	690	690.	691	706	720	720	720.
	764	779	838	867	867.	808	823	848	882	890.
	705	632	632	647	661.	705	705	661	676	676.
	940	940	970	985	985.	1000	1029	1043	1043	1058.

1 micrgrm. por c.c.

5 micrgrm. por c.c.

10 micrgrm. por c.c.

50 micrgrm. por c.c.

100 micrgrm. por c.c.

2.° *CARA POSTERIOR.*

A) Diafragma íntegro, obtenemos lo siguiente:

	Sin fármacos						Con fármacos				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	485	573	573	573	573.		573	670	670	670	670.
	511	588	588	588	588.	1 micrgrm.	603	661	661	661	661.
	514	573	573	573	573.	por c.c.	603	661	661	661	661.
	279	338	338	338	338.		382	367	367	367	367.
	470	456	514	514	514.	5 micrgrm.	558	558	558	558	558.
	514	573	573	573	573.	por c.c.	617	617	617	617	617.
	382	426	426	426	426.		500	500	485	485	485.
	617	617	617	617	617.	10 micrgrm.	647	647	647	647	647.
	412	412	412	412	412.	por c.c.	456	456	456	456	456.
	603	647	647	647	647.		676	661	661	661	661.
	412	456	456	456	456.	50 micrgrm.	529	529	529	529	529.
	617	676	676	676	676.	por c.c.	720	720	720	720	720.
	514	588	588	588	588.		676	676	676	676	676.
	632	691	691	691	691.	100 micrgrm.	676	800	800	800	800.
	367	485	500	500	500.	por c.c.	544	544	544	544	544.

B) Cara posterior sin el cristalino, nos dan los datos que siguen:

	Sin fármacos						Con fármacos				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	529	529	485	485	485.		500	500	500	500	500.
	460	397	397	397	397.	1 micrgrm.	500	412	412	412	412.
	460	460	460	460	460.	por c.c.	603	588	588	588	588.
	412	397	397	397	397.		412	441	441	441	441.
	367	353	353	353	353.	5 micrgrm.	367	367	367	367	367.
	573	573	573	573	573.	por c.c.	603	588	588	588	588.
	650	560	560	560	560.		661	700	700	700	700.
	456	397	397	397	397.	10 micrgrm.	397	426	426	426	426.
	941	911	911	911	911.	por c.c.	911	926	926	926	926.
	426	397	397	397	397.		441	441	441	441	441.
	456	397	397	397	397.	50 micrgrm.	426	426	426	426	426.
	588	588	588	588	588.	por c.c.	603	603	603	603	603.
	529	460	460	460	460.		514	514	514	514	514.
	397	441	441	441	441.	100 micrgrm.	441	441	441	441	441.
	397	353	353	353	353.	por c.c.	382	382	382	382	382.

En estas pruebas, donde hemos utilizado el sulfato de atropina, vemos que su acción paralizante sobre el tono del esfinter pupilar, por neutralizar la acción de la acetilcolina sobre la substancia receptiva del sistema muscular liso parasimpático es muy intensa, produciendo en consecuencia en el ojo in vivo, como ya sabemos una falta completa de acomodación a la visión próxima

y también un aumento de la presión intraocular, sin embargo este aumento es muy pequeño comparado con el producido por los adrenérgicos.

En las cifras con cristalino observamos perfectamente, que en las pruebas conteniendo atropina, sus cifras son mayores; esto manifiesta claramente que se produce una midriasis mayor en el diafragma ocular, y ella es debida a la acción de la atropina que directamente por contacto reciben los elementos oculares componentes del diafragma.

También observamos que el efecto de la atropina se manifiesta en forma constante a partir de los cinco minutos unas veces y otras a partir de los diez minutos. Este retraso en su acción algunas veces, puede ser por la mayor o menor sensibildad del animal al fármaco y también a las distintas concentraciones que empleamos.

El efecto de la atropina es el mismo por ambas caras, pero sin embargo, hay diferencia de una a otra manera aunque igualmente existe dilatación; así por cara posterior adquiere menor tamaño y desde luego sigue una recta paralela a la seguida por el testigo. Por la cara anterior vemos palpable su efecto, debido al factor LUZ, que ayuda o contribuye de manera especial en la dilatación pupilar. Por esto podemos decir que la midriasis obtenida por la cara anterior es producto de dos factores: LUZ y ATROPINA.

Por cara posterior solamente producto de la atropina, ya que la luz no actúa excitando el iris. Pensamos por tanto, que tiene cierto interés el estudio de la atropina por cara posterior, ya que aquí solamente la luz actúa indirectamente sobre la cara anterior, por lo tanto es constante y no suficiente para con el factor tiempo dar modificación.

Las cifras obtenidas sin el cristalino son más altas, tal vez por su eliminación, ya que como sabemos éste elimina de la luz, con su absorción a todos los rayos por encima de las 25.000 U.A. y en la zona de los ultravioletas los inferiores a las 4.000 U.A.

En las pruebas sin el cristalino el efecto de la atropina se manifiesta por cara anterior con midriasis que no alcanza la cifra su constancia como con el cristalino, pero que en ello puede influir la falta de apoyo que al iris le presta el cristalino. Pienso esto obedece más a respuestas del iris que al estímulo luz, porque por la cara posterior, aunque las cifras son más bajas, a la vez son constantes. Todo ello nos comprueba que la atropina obra siempre igual, bien por una cara o por la otra y que las modificaciones que hemos señalado son debido únicamente al factor luz por la cara anterior.

PRUEBAS REALIZADAS CON EFEDRINA

1.° *CARA ANTERIOR.*

A) Diafragma íntegro.—Obtenemos los datos que a continuación exponemos:

	Sin fármacos						Con efedrina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	700	823	911	955	966.		876	936	966	966	966.
	600	676	676	676	691.	1 micrgrm.	691	867	882	882	882.
	441	441	514	573	573.	por c.c.	706	706	706	706	706.
	441	450	456	470	514.		456	470	470	470	470.
	911	941	985	1029	1029.	5 micrgrm.	1102	1146	1146	1146	1146.
	441	441	514	573	573.	por c.c.	611	650	650	650	650.
	441	450	456	470	500.		477	500	500	500	500.
	600	676	676	676	691.	10 micrgrm.	735	735	735	735	735.
	441	441	514	573	573.	por c.c.	580	650	671	680	680.
	411	941	985	1029	1029.		1075	1110	1110	1110	1110.
	600	676	676	676	691.	50 micrgrm.	750	750	800	800	800.
	441	441	514	573	573.	por c.c.	676	720	720	720	720.
	441	450	456	470	514.		550	582	605	605	605.
	911	941	985	1029	1029.	100 micrgrm.	1040	1076	1076	1076	1076.
	600	676	676	676	676.	por c.c.	721	726	735	735	735.

B) Cara anterior sin el cristalino obtenemos lo siguiente:

	Sin fármacos						Con efedrina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	323	323	353	397	404.		500	514	514	514	514.
	661	674	691	691	691.	1 micrgrm.	614	735	735	735	735.
	514	558	588	588	588.	por c.c.	588	588	588	588	588.
	323	323	353	397	404.		412	456	470	470	470.
	661	674	691	691	691.	5 micrgrm.	688	705	735	735	735.
	514	558	588	588	588.	por c.c.	603	603	603	603	603.
	323	323	353	397	404.		426	455	470	470	470.
	661	674	691	691	691.	10 micrgrm.	705	706	720	720	720.
	514	558	588	588	588.	por c.c.	603	603	617	617	617.
	323	323	353	397	404.		441	456	470	470	470.
	661	674	691	691	691.	50 micrgrm.	661	735	735	735	735.
	514	558	588	588	588.	por c.c.	617	617	617	617	617.
	323	323	353	397	404.		441	456	470	470	470.
	661	674	691	691	691.	100 micrgrm.	661	735	735	735	735.
	514	558	588	588	588.	por c.c.	617	617	617	617	617.

2.° *CARA POSTERIOR.*

A) Diafragma íntegro:

	Sin fármacos						Con efedrina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	338	338	338	338	338		338	353	353	353	353
	632	676	676	676	676	1 micrgrm.	764	764	764	764	764
	460	558	558	558	558	por c.c.	573	573	573	573	573
	338	338	338	338	338		352	353	353	353	353
	632	676	676	676	676	5 micrgrm.	779	779	779	779	779
	632	676	676	676	676	por c.c.	735	735	735	735	735
	338	338	338	338	338		352	353	353	353	353
	460	603	603	603	603	10 micrgrm.	691	691	691	691	691
	632	676	676	676	676	por c.c.	735	735	735	735	735
	460	558	558	558	558		573	573	573	573	573
	460	603	603	603	603	50 micrgrm.	705	705	705	705	705
	632	676	676	676	676	por c.c.	750	750	750	750	750
	632	676	676	676	676		808	808	808	808	808
	460	558	558	558	558	100 micrgrm.	617	617	617	617	617
	460	603	603	603	603	por c.c.	691	705	705	705	705

B) Sin el cristalino por cara posterior obtenemos:

	Sin fármacos						Con efedrina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	279	294	294	294	294		353	353	353	353	353
	514	426	426	426	426	1 micrgrm.	456	456	456	456	456
	441	456	456	456	456	por c.c.	470	470	470	470	470
	279	294	294	294	294		294	294	294	294	294
	426	426	426	426	426	5 micrgrm.	470	470	470	470	470
	441	456	456	456	456	por c.c.	485	485	485	485	485
	279	294	294	294	294		294	294	294	294	294
	514	426	426	426	426	10 micrgrm.	470	470	500	500	500
	441	456	456	456	456	por c.c.	500	500	500	500	500
	279	294	294	294	294		309	309	309	309	309
	400	426	426	426	426	50 micrgrm.	500	500	500	500	500
	441	456	456	456	456	por c.c.	485	485	485	485	485
	279	294	294	294	294		338	338	338	338	338
	412	426	426	426	426	100 micrgrm.	480	490	500	500	500
	441	456	456	456	456	por c.c.	485	485	485	485	485

En estas pruebas con efedrina observamos por cara anterior con o sin el cristalino una midriasis del diafragma ocular, la cual durante los cinco o diez primeros minutos adquiere la máxima dilatación.

Por la cara posterior también observamos midriasis, aunque más pequeña que por la cara anterior, debido a que falta el factor luz como estímulo sobre la mencionada cara anterior.

Igualmente vemos cómo la dilatación que obtenemos con la efedrina es menor que con el fármaco anterior, o sea, la atropina.

RESULTADOS UTILIZANDO PILOCARPINA

1.° *CARA ANTERIOR.*

A) Diafragma íntegro.—Hemos hallado los datos que siguen:

	Sin fármacos						Con pilocarpina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	367	397	412	441	441.		397	412	412	441	441.
	603	632	691	706	720.	1 micrgrm.	706	706	706	706	706.
	691	823	867	897	941.	por c.c.	720	808	853	853	853.
	367	397	412	441	441.		397	397	397	397	397.
	603	636	691	706	720.	5 micrgrm.	706	691	691	691	691.
	691	823	867	897	914.	por c.c.	735	794	823	823	823.
	267	397	412	441	441.		412	412	412	412	412.
	603	632	867	897	914.	10 micrgrm.	620	650	650	650	650.
	691	823	867	897	914.	por c.c.	706	735	750	750	750.
	367	397	412	441	441.		397	397	397	397	397.
	603	632	691	706	720.	50 micrgrm.	635	650	650	650	650.
	691	823	867	897	914.	por c.c.	661	661	661	661	661.
	467	497	492	491	491.		456	457	457	457	457.
	603	632	691	706	720.	100 micrgrm.	647	647	647	647	647.
	691	823	867	897	914.	por c.c.	735	735	735	735	735.

B) Sin el cristalino obtenemos lo siguiente:

	Sin fármacos						Con pilocarpina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	632	750	779	786	786.		617	632	647	676	676.
	573	647	676	676	676.	1 micrgrm.	558	514	500	500	500.
	290	320	330	350	380.	por c.c.	200	300	300	300	300.
	632	750	779	786	786.		558	529	529	529	529.
	573	647	676	676	676.	5 micrgrm.	573	529	514	514	500.
	290	320	330	350	380.	por c.c.	392	300	290	275	275.
	632	750	779	786	786.		367	353	398	394	394.
	573	647	676	676	676.	10 micrgrm.	558	514	514	450	430.
	290	320	330	350	380.	por c.c.	323	309	292	279	279.
	632	750	777	786	786.		382	294	236	236	236.
	397	500	514	514	514.	50 micrgrm.	617	588	588	514	514.
	573	647	676	676	676.	por c.c.	588	541	541	541	541.
	397	500	514	514	514.		514	441	441	420	420.
	573	647	676	676	676.	100 micrgrm.	470	441	430	422	422.
	390	455	497	525	550.	por c.c.	410	441	441	441	441.

2.° *CARA POSTERIOR.*

A) Diafragma íntegro.

	Sin fármacos						Con pilocarpina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	382	412	412	412	412.	1 micrgrm.	397	382	382	382	382.
	514	503	503	503	503.		485	485	485	485	485.
	382	412	412	412	412.	5 micrgrm.	382	382	382	382	382.
	514	503	503	503	503.		470	485	485	485	485.
	382	412	412	412	412.	10 micrgrm.	382	382	382	382	382.
	514	503	503	503	503.		514	585	585	470	470.
	382	412	412	412	412.	50 micrgrm.	367	367	367	367	367.
	514	503	503	503	503.		470	470	470	470	470.
	382	412	412	412	412.	100 micrgrm.	400	400	400	400	400.
	514	503	503	503	503.		470	558	558	558	558.

B) Sin el cristalino.

	Sin fármacos						Con pilocarpina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	588	588	588	588	588.		309	309	309	309	309.
	441	441	411	441	441.	1 micrgrm.	279	250	250	250	250.
	500	475	475	475	475.	por c.c.	367	367	367	367	367.
	320	308	308	308	308.		15	15	15	15	15.
	382	382	367	367	367.	5 micrgrm.	190	176	176	176	176.
	441	441	441	441	441.	por c.c.	235	220	220	220	220.
	441	441	441	441	441.		191	191	191	191	191.
	382	367	367	367	367.	10 micrgrm.	220	220	220	220	220.
	355	355	350	350	350.	por c.c.	191	176	176	176	176.
	382	367	367	367	367.		162	162	162	162	162.
	441	411	411	411	411.	50 micrgrm.	206	206	206	206	206.
	380	382	482	482	382.	por c.c.	60	50	51	51	51.
	441	411	411	411	411.		191	191	191	191	191.
	472	471	471	471	471.	100 micrgrm.	250	220	220	220	220.
	450	450	450	450	450.	por c.c.	267	250	250	250	250.

En estas pruebas con pilocarpina vemos que por la cara anterior y con el diafragma íntegro produce una miosis. Su acción es igual a la acetilcolina, con la diferencia que por ser su destrucción más lenta por los fermentos colinesterasa, su acción miótica es más prolongada.

Por la cara anterior también vemos, que sin el cristalino la contracción del esfinter pupilar es más intensa; esto se debe a que la cara anterior del cristalino con su convexidad oponga una cierta resistencia a la intensa contracción del esfinter, y también a que falta el apoyo que el cristalino presta al iris.

Por la cara posterior vemos igualmente la miosis que produce la pilocarpina, aunque la diferencia entre testigo y con fármaco es menor por esta cara; ello refleja solamente el efecto de la pilocarpina, y nada el factor luz.

En las pruebas realizadas por la cara posterior y sin el cristalino por faltarle las acciones mecánicas que el cristalino tiene sobre el iris, la contracción del esfinter pupilar es muy intensa.

En estas pruebas con pilocarpina, interesa sobre todo la inhibición que el factor produce sobre la acción de la pilocarpina por cara anterior.

RESULTADOS UTILIZANDO ACETILCOLINA

1.° *CARA ANTERIOR.*

A) Diafragma íntegro.

	Sin fármacos						Con acetilcolina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	367	382	397	412	426		353	382	297	412	412
	823	897	970	977	984	1 micrgrm.	661	837	823	823	823
	691	779	823	838	853	por c.c.	529	570	588	603	603
	367	382	397	412	426		294	309	388	323	323
	773	955	1029	1044	1051	5 micrgrm.	911	882	856	854	854
	691	779	923	838	853	por c.c.	500	558	570	588	588
	367	382	397	412	426		353	367	382	382	382
	775	955	1029	1043	1051	10 micrgrm.	926	897	856	856	856
	823	897	970	977	985	por c.c.	676	823	823	823	823
	367	382	397	412	426		382	382	397	397	397
	823	897	970	977	984	50 micrgrm.	661	808	808	823	823
	691	779	823	838	853	por c.c.	514	588	588	603	603
	773	955	1029	1044	1051		940	882	852	852	852
	823	897	970	977	984	100 micrgrm.	735	808	823	823	823
	691	779	823	939	853	por c.c.	529	558	573	588	588

B) Sin el cristalino.—Cara anterior:

	Sin fármacos						Con acetilcolina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	645	632	632	647	661		647	581	573	573	573
	985	981	1000	1000	1000	1 micrgrm.	897	897	911	911	911
	500	588	676	793	793	por c.c.	647	676	691	720	720
	605	632	632	647	661		617	588	588	588	588
	955	981	1000	1000	1000	5 micrgrm.	897	882	882	882	882
	600	660	700	720	720	por c.c.	587	650	688	688	688
	650	632	632	647	661		558	514	514	514	514
	955	981	1000	1000	1000	10 micrgrm.	867	867	867	867	867
	650	700	726	723	723	por c.c.	632	646	667	667	667
	630	632	632	647	661		456	441	441	441	441
	985	981	10000	1000	1000	50 micrgrm.	779	808	823	823	823
	650	750	793	793	793	por c.c.	503	617	632	632	632
	605	632	632	647	661		441	441	441	441	441
	985	981	10000	1000	1000	100 micrgrm.	764	779	793	793	793
	630	630	646	646	646	por c.c.	445	470	485	485	485

2.° *CARA POSTERIOR.*

A) Diafragma íntegro:

	Sin fármacos						Con acetilcolina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	691	705	705	705	705		617	617	617	617	617
	544	544	544	544	544	1 micrgrm.	455	485	500	500	500
	573	573	573	573	573	por c.c.	573	573	573	573	573
	691	705	705	705	705		617	617	617	617	617
	529	544	544	544	544	5 micrgrm.	476	485	500	500	500
	573	573	573	573	573	por c.c.	544	544	544	544	544
	691	705	705	705	705		529	529	529	529	529
	529	544	544	544	544	10 micrgrm.	455	514	529	529	529
	591	573	573	573	573	por c.c.	558	558	558	558	558
	529	544	544	544	544		455	455	455	455	455
	544	544	544	544	544	50 micrgrm.	470	500	500	500	500
	573	573	573	573	573	por c.c.	544	544	544	544	544
	529	544	544	544	544		485	485	485	485	485
	544	544	544	544	544	100 micrgrm.	470	500	500	500	500
	573	573	573	573	573	por c.c.	529	529	529	529	529

B) Sin el cristalino por la cara posterior:

	Sin fármacos						Con acetilcolina				
Tiempo	0	5	10	15	20		0	5	10	15	20
Temper.	20°		25°		30°		20°		25°		30°
	470	426	412	412	412		353	353	353	353	353
	955	941	941	941	941	1 micrgrm.	676	676	676	676	676
	514	514	514	514	514	por c.c.	491	491	491	491	491
	470	426	412	412	412		323	323	323	323	323
	955	941	941	941	941	5 micrgrm.	911	897	897	897	897
	514	514	514	514	514	por c.c.	514	500	500	500	500
	470	426	412	412	412		309	309	309	309	309
	955	941	941	941	941	10 micrgrm.	732	732	732	732	732
	514	514	514	514	514	por c.c.	514	500	485	485	485
				59							
	470	426	412	412	412		294	294	294	294	294
	955	941	941	941	941	50 micrgrm.	603	603	603	603	603
	514	514	514	514	514	por c.c.	470	470	470	470	470
	470	426	412	412	412		279	279	279	279	279
	955	941	941	941	941	100 micrgrm.	600	600	600	600	600
	514	514	514	514	514	por c.c.	456	456	456	456	456

Aquí vemos que con la acetilcolina y la luz por cara anterior, la respuesta obtenida es una miosis. Más intensa cuando eliminamos el cristalino, por falta de las acciones mecánicas que presenta dicha lente.

Por la cara posterior se observa mayor contracción del esfinter pupilar, debido a que la luz no actúa, sobre la cara anterior del iris, por ello la acetilcolina desarrolla su acción sin encontrar la resistencia que ofrece la respuesta a la luz por cara anterior.

PRUEBAS REALIZADAS EN CONEJOS VIVOS

Estas pruebas consisten en hacer llegar por inyección el fármaco deseado a las distintas cámaras, anterior y posterior del ojo.

Para ello tomamos conejos a los que inyectamos una décima de c.c. de solución al uno por mil, de cada uno de los fármacos que ensayamos; con una pinza sujetando el globo ocular, por la zona limbo-córneo-escleral y atravesando la raíz del iris llegamos a cámara posterior. Acto seguido y en el otro ojo del animal inyectamos también la misma cantidad de solución en la cámara anterior.

Observando durante veinte minutos y anotando los cambios del diámetro pupilar en milímetros, que experimenta cada ojo formamos las gráficas que resumimos en lo siguiente:

1.° Con atropina, vemos cómo este fármaco alcanza su máximo efecto durante el primer minuto por cámara anterior para ser igual durante los veinte que duran nuestras pruebas. Esto no sucede por la cámara posterior, puesto que la midriasis obtenida no se produce hasta los doce o catorce minutos y además no llega a ser tan intensa la midriasis.

Vemos que el pigmento posterior del iris no permite que la acción de la atropina se manifieste y sí por la cara anterior, por lo que según pasa a cámara anterior el fármaco, se manifiesta su efecto. La intensidad también varía, porque la atropina inyectada en cámara posterior sufre una alteración, que puede ser de concentración el mezclarse con el humor acuoso o por disminuir su acción el vitrio existente en la cámara posterior.

2.° Adrenalina observamos que por la cámara anterior se manifiesta y alcanza su máxima acción durante el primer minuto, por la posterior aunque su efecto empieza a manifestarse en el primer minuto no alcanza su máxima acción hasta los tres o cinco minutos, siendo igualmente menos intensa la midriasis.

3.° *La pilocarpina.*—Con ella observamos una miosis por ambas cámaras. La intensidad es igual por las dos cámaras y como única diferencia notamos que la miosis por la cámara posterior se consigue un minuto después que por la anterior.

4.° Acetilcolina, ella se manifiesta también con miosis durante el primer minuto por ambas cámaras, sin embargo notamos hay una mayor alteración por los amonios cuaternarios en la cámara posterior del iris.

CONCLUSIONES

PRIMERA.—En ojo enucleado in vitro en cuyas preparaciones conservan íntegro el diafragma ocular, como en las que eliminamos el cristalino, observamos por cara anterior una midriasis, creciendo en relación con el tiempo que la luz actúa sobre el iris. Por tanto, en la cara anterior del iris existe algún receptor de los rayos luminosos que obra, ya directa o indirectamente sobre el funcionamiento del esfínter iriano.

SEGUNDA.—En las preparaciones con diafragma íntegro y sin el cristalino, enviando los rayos luminosos por la cara posterior observamos que la luz no modifica el diámetro pupilar, persistiendo durante los veinte minutos de nuestras pruebas; ello es debido a que el iris por su cara posterior está protegido por el epitelio pigmentario con sus dos capas.

TERCERA.—Posible existencia de una inervación propia ocular en el iris, perfectamente demostrable por la cara anterior, y nula o inhibida por la cara posterior, debido a las capas pigmentarias. Donde únicamente pueden residir estos captadores de fotones luminosos, por su extraordinaria sensibilidad a la luz, es en los pigmentos. Y que la luz actúe sobre la púrpura de dichos pigmentos, produciendo un desequilibrio eléctrico que origina influjo nervioso, por intermedio de las numerosas fibrillas que están rodeados y a su vez éstas actúan sobre la musculatura.

CUARTA.—Añadiendo atropina en las pruebas por cara anterior con todo el diafragma ocular se observa mayor midriasis que al solo efecto de la luz, por la correspondiente acción del fármaco. Cuando se elimina el cristalino, por la falta de convergencia y absorción que éste ejerce sobre los rayos luminosos, como por la falta de apoyo que presta al iris, la midriasis es más intensa.

QUINTA.—Añadiendo atropina y luz por la cara posterior, con el diafragma íntegro y eliminando el cristalino se observa la midriasis respuesta al fármaco, la cual es constante durante el tiempo que duran nuestras pruebas. La midriasis es menor que por la cara anterior debido a que falta el estímulo lumínico por esta cara posterior.

SEXTA.—En todas las pruebas realizadas con efedrina observamos una midriasis producida por este fármaco, sin embargo en las realizadas por la cara posterior vemos es menor la midriasis, por faltar el efecto de los rayos luminosos sobre la cara anterior del iris. Nos muestra, pues, que la midriasis por efedrina es mayor que el solo efecto de la luz.

SEPTIMA.—Con pilocarpina observamos en todas las pruebas una miosis, debida a la acción del fármaco, más intensa en las realizadas con la luz por cara posterior por faltar el efecto dilatador de la luz.

OCTAVA.—En las pruebas realizadas con la acetilcolina vemos en todas ellas una miosis, que es mayor en aquellas en que la luz es enviada por la cara posterior, porque en éstas la acetilcolina no tiene que neutralizar la midriasis que produce el factor luz sobre la cara anterior del iris.

NOVENA.—La inyección intracameral en ojos de conejos nos manifiesta que la atropina y la adrenalina obran en la cámara anterior del ojo y no tienen efecto dilatador en la posterior. La pilocarpina y la acetilcolina producen miosis por ambas cámaras, pero con la diferencia de que hay mayor alteración por los amonios cuaternarios en la cámara posterior.

ACTIVIDAD BIOELÉCTRICA DE LA CÓRNEA Y ANESTÉSICOS LOCALES

POR

LUIS MUÑOZ MATEOS

INTRODUCCION

La permeabilidad de membranas es un problema muy complejo que ha suscitado siempre vivo interés dentro de los estudios de la biofísica.

Nosotros en nuestro trabajo nos limitamos a la permeabilidad iónica, es decir, al paso de iones de un componente electrolítico a través de una membrana, la córnea.

La complejidad y ambigüedad del término permeabilidad viene incrementado en este caso de la córnea, por tratarse de un tejido complejo en sí, a la vez epitelial, fibroso y endotelial, que se mantiene en perfecta transparencia, carácter éste esencialísimo que da a esta membrana toda su peculiaridad y cuya explicación biológica no está completamente aclarada, aunque se atribuye al paralelismo regular de las fibras o láminas del tejido intersticial, a la ausencia de vasos y sobre todo al contenido en agua del protoplasma celular, lo que condiciona un equilibrio riguroso de las micelas celoidales. Esta cualidad fundamental de la córnea, la transparencia, resulta un tanto paradógica con respecto a la esclerótica, ya que ésta, teniendo la misma estructura histológica y origen embrionario, no es en absoluto transparente.

Como toda membrana viva tiene su metabolismo. El protoplasma y la membrana celular de sus elementos celulares tienen distinto grado de permeabilidad entre sí. La membrana celular ha de dejar pasar a su través sustancias nutritivas, reteniendo las necesarias y eliminando las nocivas producidas en su metabolismo, proceso ana-catabólico constante. De ahí que la permeabilidad celular no sea fija y esté en íntima dependencia con su actividad y vitalidad, con su momento funcional.

No es posible interesarse en el estudio de la permeabilidad prescindiendo de la estructura de la membrana y de sus propiedades físico-químicas y fisiológicas: *el epitelio* parece ser una membrana permeable dotada de especial función selectiva en el sentido fuera-dentro, propiedad que desaparece apenas sus elementos constitutivos sean alterados, aunque solo funcionalmente, *el parenquima* es tenido como una membrana inerte de difusión, permeable en las dos opuestas direcciones, *el endotelio* posee una especial función selectiva en sentido dentro-fuera, y sin llegar al concepto absolutista de Fischer de *permeabilidad irrecíproca,* por el que la córnea no deja pasar el humor acuoso hacia el exterior debido al endotelio, poder que cesa al lesionarse este estrato, sí puede considerarse al endotelio como membrana semi-permeable. Las membranas de Descemet y Bowmann no tienen respecto a la permeabilidad alguna particular importancia y se las considera con funciones similares a las del parenquima.

En el caso de la permeabilidad corneal no se trata, pues, de una filtración, sino de un fenómeno de *solubilidad de fase,* actúa como una doble

barrera, el epitelio no dejando pasar nada más que las sustancias liposolubles, en cambio el estroma nada más que las hidrosolubles, así una sustancia no pasa a través de la córnea intacta más que si es a la vez hidro y liposoluble como es el caso de los gases, oxígeno y óxido de carbono. El agua difunde en las dos direcciones a través de la córnea intacta, constituye, pues, una excepción, no es liposoluble, pero es un fenómeno constante en fisiología que el agua pasa a través de las barreras de sustancias liposolubles.

Kinsey demostró que una base débil como la homatropina, por ejemplo, pasa el epitelio bajo la forma de homatropin-base liposoluble, mientras que la parte ionizada de la solución (que es la mayor), no puede atravesarla. Una vez atravesado el epitelio la homatropin-base toma inmediatamente la forma ionizada y es bajo esta forma hidrosoluble como atraviesa el estroma. Y de nuevo para atravesar el endotelio adopta la forma de homatropin-base. Todas estas reacciones son posibles gracias al equilibrio iónico, por el que una solución permite que un elemento destruído o eliminado se renueve a partir de otros elementos.

Si se quiere estar en condiciones experimentales vecinas a las fisiológicas, es necesario no olvidar en el planteamiento del estudio, que es una membrana viva y que logra mantener intacta su transparencia por estar continuamente inmersa en líquidos que tienen composición química un tanto distinta a la del tejido y una presión osmótica que no es la misma que la del tejido intersticial.

Por estas particulares condiciones de vida, las experiencias con córnea excindida y líquidos preparados, aunque sirven para estudiar ciertos aspectos, no han resuelto totalmente el problema y no se puede asegurar que se estudie fisiológicamente la permeabilidad. Para lo cual sería necesario estudiarla "in situ", en el ambiente líquido en el cual se encuentra y con los cambios metabólicos que tiene con los tejidos vecinos.

Fieles a estos principios, hemos procurado en nuestras experiencias, acercarnos lo más posible, a las condiciones fisiológicas de la córnea: Las soluciones electrolíticas usadas son afines a las que normalmente bañan la córnea, prácticamente isotónicas, de tal modo que queda descartada la influencia de fenómenos puramente mecánicos de arrastre debidos a la presión osmótica.

El estímulo eléctrico, por su voltaje, frecuencia y duración, es inócuo para la vitalidad de la membrana, a la que no se le deben producir injurias que sean lesivas. Por otra parte también es infinitesimal la cantidad de producto a estudiar (anestésico local), ya que manejamos 1000 gammas en 40 c.c. (25 por c.c.).

Cerramos este capítulo con esta definición tan acertada de Favalore sobre la córnea: *Es una membrana coloidal pluriestratificada de permeabilidad selectiva, regulada, relativamente unidireccional e irrecíproca, que obedece a las leyes físico-químicas, biológicas y vitales de la membrana viva, en correlacionismo funcional de sus capas.*

Los métodos de investigación de que se han servido los distintos autores para conocer la permeabilidad de membranas a los diferentes medicamentos han sido muy variados, pero pueden concretarse en métodos biológicos, químicos, físico-químicos, colorimétricos, con trazadores radioactivos, métodos osmóticos, microespectrométricos.

Referente a la investigación de la permeabilidad corneal los métodos preferidos han sido:

Cuando se ha buscado una valoración solo de orden comparativo han recurrido al *método biológico,* generalmente valorando el efecto miósico o midriático de un fármaco, teniendo presente que la intensidad de esta respuesta biológica varía en las diversas especies e incluso en los individuos de la misma especie, de ahí que interese

en este método determinar el valor medio de diversas experiencias. (Schneider, Dierkss Klass, Antonibon, Simón).

Para hacer una valoración exacta de la intensidad de la absorción han hecho uso del *análisis químico,* poniendo en contacto de la córnea, con distintas técnicas y procederes, el producto a estudiar y dosificando después en acuoso. Yoduro potásico en el ojo de conejo (Ulry y Frezals, Gosselin), nitrato de calcio y fosfato magnésico (Mestrezat, Girard y Morax), cloruro de sodio y amonio (Fischer, Ridley), alcaloides, yoduro de sodio en ojo de cerdo enucleado y en ojo de conejo vivo (Klein, Iwai).

Otros han recurrido a métodos *fisico-químicos,* valiéndose de distintos artificios, donde ponen a prueba su sagacidad técnica. Así ya Leber en 1875 adaptó córnea de conejo en la extremidad de un tubo, en el que depositaba solución de ClNa al 0'75% y ejercía presiones distintas. Fischer en 1930 determinó el recambio gaseoso entre la córnea y la atmósfera circundante. Cogan y su escuela, en numerosos trabajos estudiaron la permeabilidad de la córnea extirpada a los iones mediante determinación de la impedancia eléctrica.

Algunos investigadores instilando en el ojo *sustancias colorantes,* fluoresceina, eosina, rojo bengala, etc., han seguido su paso a través de los distintos estratos corneales y llegar al acuoso, estudiando distintas concentraciones y relacionándolo con la integridad y el grado de imbibición del epitelio y endotelio. (Klar, Nakamura, Von Hoefe que con luz de onda corta revelaba soluciones de fluoresceína más bajas).

El estudio de la permeabilidad con potenciales bioeléctricos, la permeabilidad iónica especialmente, puede tener dos variantes: 1.° el cálculo de la movilidad iónica por la diferencia de concentración electrolítica y 2.° determinación de la conductividad o impedancia, consecuentemente a la capacidad y resistencia eléctrica. Y éste es nuestro proceder, el estudio *bioeléctrico* de la permeabilidad de la córnea a los anestésicos locales, mediante el análisis de la "onda cuadrada" que produce un estímulo dado al atravesar un dieléctrico.

MATERIAL

Se han utilizado aparatos eléctricos, un dispositivo especial para soporte del objeto biológico, soluciones salinas, cámara fotográfica, ampliadora, planimetro, anestésicos locales, córneas de ganado vacuno.

Los aparatos son electrónicos, de mucha precisión, bien blindados y aislados y aunque de gran estabilidad de por sí, hemos hecho uso de un Estabilizador de corriente para evitar al máximo las interferencias y fluctuaciones de red, dada la índole del trabajo.

STIMULATOR productor de estímulos eléctricos para aplicaciones biológicas en general. El estímulo producido es el conocido como "onda cuadrada" o rectangular, por su aspecto característico en la oscilación de la pantalla, con comienzo y terminación brusca, manteniéndose entre ambos momentos la intensidad y el voltaje constantes, quedando el impulso eléctrico definido citando la duración (o anchura) y el voltaje o intensidad (altura).

Sus márgenes de funcionamiento son:

Frecuencia=Entre 1 por minuto hasta más de 10.000/segundo.
Duración=Desde más de 0'1 seg. hasta menos de 20 microseg.
Intensidad=De 0 a 200 voltios o de 0 a 12 miliamperes.
Produce onda cuadrada positiva a alta impedancia. Posee dis-

paradores (triggers) positivos y negativos para sincronización demorada (delay). Realiza sus funciones mediante tres unidades colocadas en cascada: a la izquierda la que regula la frecuencia a que se realizan los impulsos; en el centro, derivada de la anterior, la del control de los tiempos, es la productora de onda restangular y la de la derecha es la unidad de potencia, con cuyo mando se puede modificar el voltaje de salida. Posee borna automática, marcada "tierra" que debe conectarse a la masa neutra a donde derivan las demás tomas de tierra del resto de los aparatos.

Este estimulador va provisto también de sincronización para mando externo, que cuando se acopla a la propia del aparato Oscilógrafo se hace más perfecta tal función.

OSCILOGRAFO en su pantalla fluorescente se nos va a representar el fenómeno básico del experimento, la onda cuadrada, cuyas variaciones traducen los cambios eléctricos producidos por el transporte iónico a través de una membrana, la córnea.

Es el modelo GM 3156 de la casa PHILIPS, provisto de un tubo de rayos catódicos DN 9-3 con pantalla fluorescente de gran persistencia (diámetro de la pantalla 95 mm.).

Alimentación para tensión desde 110 hasta 245 V., 40-100 c/s. Consumo: 60 W. aproximadamente. Atenuador calibrado para la tensión de medida. Base de tiempos de un solo impulso. Conexión para el registro de fenómenos aperiódicos. El amplificador con contrafase ("push-pull") de dos etapas, cuya respuesta es prácticamente lineal a partir de 0'1 c/s. tiene una sensibilidad máxima de 1 mV. ef./cm. de altura de imagen y frecuencia mínima de 0'25 c/s.

La sensibilidad, relación entre tensión de entrada y la altura total de la imagen puede ser reglada de manera continua por medio del regulador de amplitud.

Provisto de reglaje de brillo de la nitidez, amplitud de imagen, de horizontalidad, de desviación vertical.

MICROAMPERIMETRO o Capacitómetro, aparato calculado para medir capacidades y resistencias, dándonos los datos directamente en micro-Faradios y ohmios. Posee escalas en 1 y en 0'5 micro-Faradios y en ohmios. Nosotros utilizamos la de 0'5 micro-Faradio.

DISPOSITIVO SOPORTE DEL OBJETO BIOLOGICO nos hemos hecho construir este dispositivo de material plástico, resistente y a la vez ligero, consistente en dos recipientes de 50 c.c. perforados en sus paredes internas con ventanas circulares de 2'5 cm. de diámetro, perfectamente encajables el uno en el otro mediante reborde de uno y rebaje del otro, entre los cuales va a quedar atrapada la córnea, imposibilitando la comunicación entre las dos cámaras, condición "sine qua non" para la experiencia. Situada así la córnea entre las dos cámaras corresponde la anterior al espacio exterior a "fuera" y la posterior a la cámara anterior del ojo, al humor acuoso.

SOLUCIONES ELECTROLITICAS en la cámara de "fuera" situamos solución 0'1 molar de ClNa y en la de "dentro" solución Ringer Rana.

Y ambos líquidos constantemente oxigenados, para que la córnea que separa a los dos esté en las condiciones más similares a las fisiológicas, como tejido vivo que es.

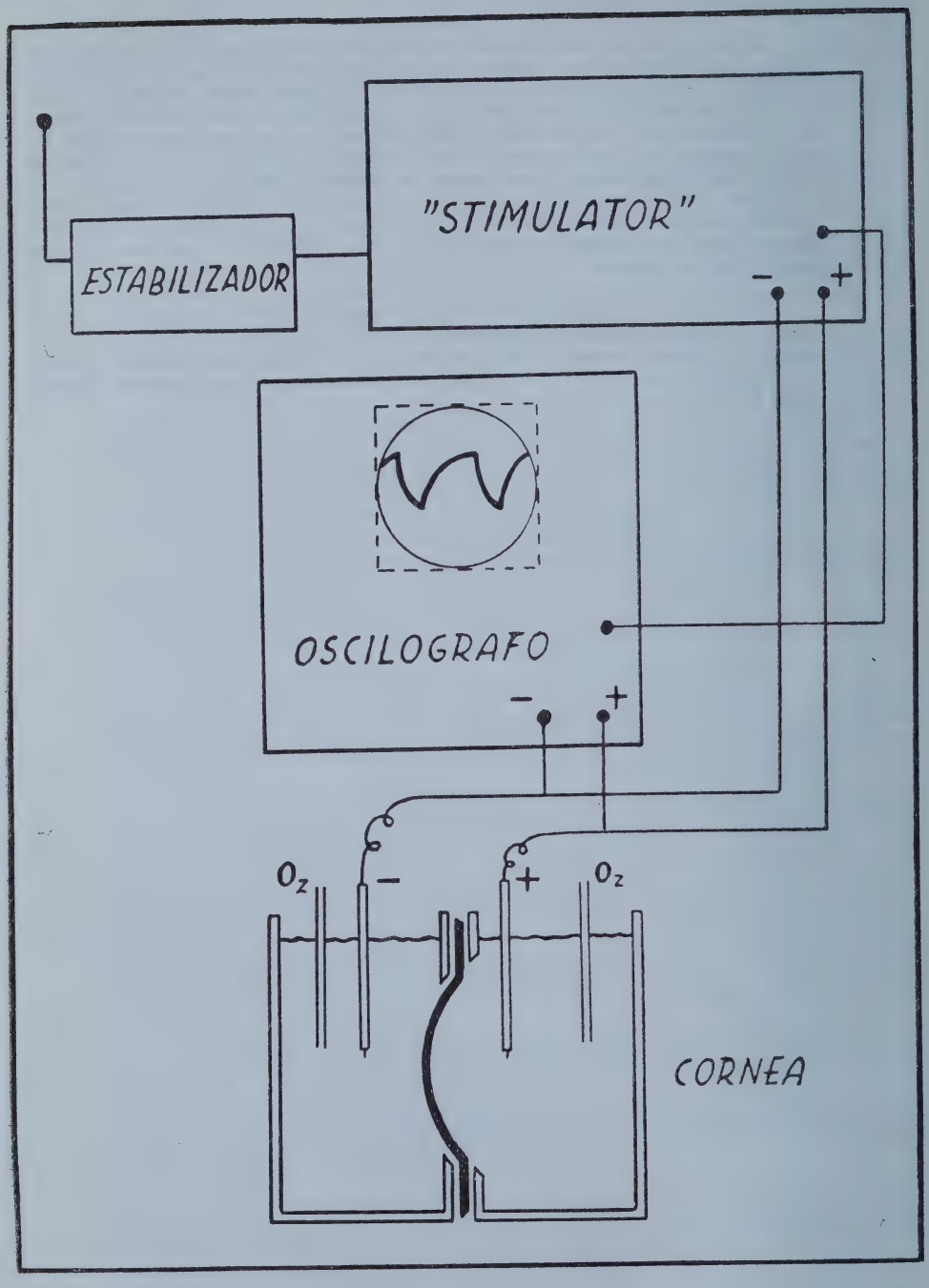
CORNEAS de ganado vacuno adulto. Inmediatamente después de sacrificado el animal eran enucleados ambos ojos, transportados acto seguido al laboratorio. En ninguna sesión han pasado más de dos horas entre la enucleación y el comienzo del experimento en la segunda córnea. Procediendo en todos los casos a una selección rigurosa de ojos, se han descartado aquellos que presentaran lesiones de polo

anterior en la inspección ocular detenida, o bien, ya en el acto de la excisión corneal, hecha con delicadeza, se advirtiera alguna anomalía en los tejidos internos oculares.

ELECTRODOS. Son elementos de suma importancia en estos trabajos de estimulación, en que no se actúa directamente sobre el objeto biológico, sino a través de un dieléctrico. Influye bastante en el resultado de la prueba el material de que esté constituído (cobre, plata), la profundidad y separación entre ellos. Un fenómeno corriente es la polarización, que consiste en la producción de potenciales pequeños de corriente continua, que alteran la escitabilidad del tejido vivo.

Los empleados en este trabajo son de plata pura clorurada electrolíticamente, prácticamente impolarizables. Van cubiertos de sustancia aisladora, excepto en 1'5 mm., que es donde se verifica el contacto con los líquidos.

MAQUINA FOTOGRAFICA. Nos hemos servido de la "Exacta", Varex Jhagee, Dresden, Germany. Modelo XV 20 x 36 mm. Con velocidades rápidas instantáneas desde 1/25 a 1/1000, velocidades lentas y exposición desde 1/5 seg. a 12 seg. Objetivo intercambiable Biotar 2/58 T.

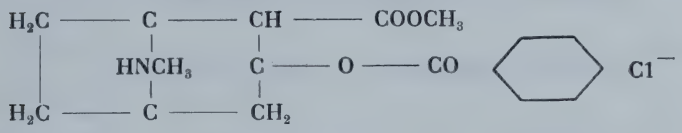

"STIMULATOR"
ESTABILIZADOR
OSCILOGRAFO
CORNEA
O_z
O_z

AMPLIADORA. La ampliadora de gráficas E. Leitz - Wetzlar.

PLANIMETRO. El de R. Reiss. G. m. b. H. Liebenwerde.

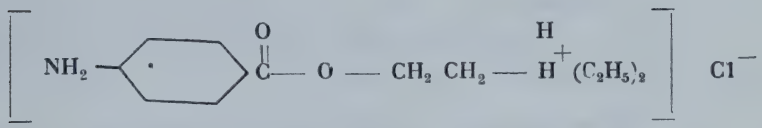
ANESTESICOS LOCALES. Los estudiados en este trabajo han sido:

Cocaína



Resulta de la unión de ciclo pirrolidínico y otro piperidínico.

Novocaína (Procaína)

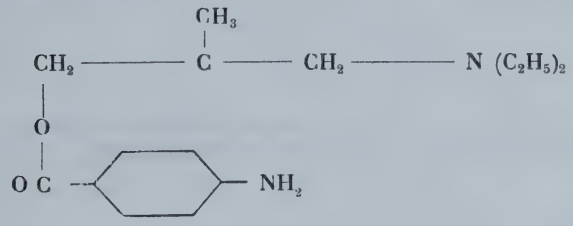


Sintetizada del para-aminobenzoico y el etil amino etanol.

Estovaina

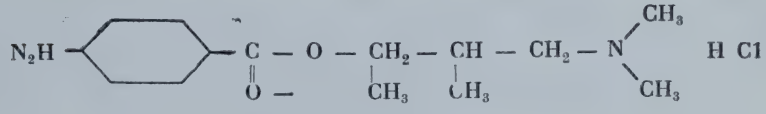
Es el clorhidrato de dimetilamino-dimetilbenzoilcarbinol.

Larocaína

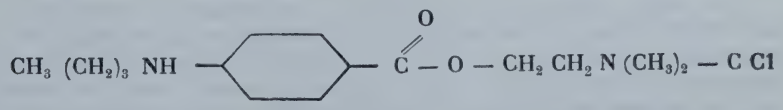


Es el clorhidrato del ester para-amino-benzoico de Y-dietil-amino β-β-dimetil propanol.

Tutocaína

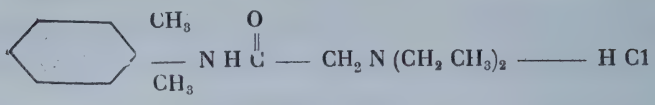


Tetracaína (Pantocaína, Ametocaína).



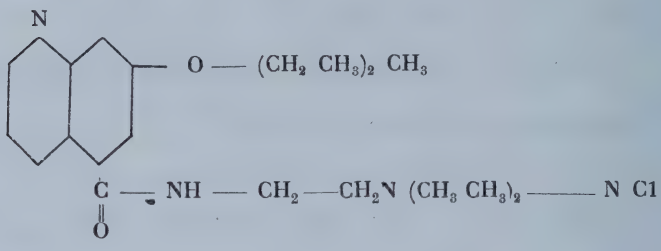
Es el cl. de p. butilamino benzoil B-dimetilamino etanol

Xilocaína (Lidocaína, Lignocaína)



Dietilamino 2-6 dimetil aceto anilida.

Percaína (Nupercaína, Cincaína, Dibucaína)

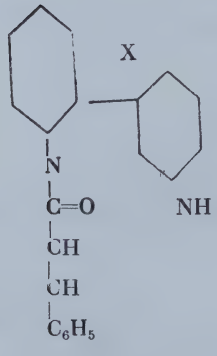


Es el clorhidrato de butil-exidietilendiamina quinolin carbónico.

Pantesina

Es el metano sulfonato del ester para aminobenzoico del n-dietil leucinol.

Adenocarpina



Es el N-Cinamil deshidro —β— —dipiperidilo.

METODO

Se hace la toma de red a 125 V. y a través del estabilizador, que evita las interferencias y fluctuaciones, se hace llegar al "Stimulator" o productor de estímulo cuadrado. Esta "onda cuadrada" representada en la pantalla fluorescente del Oscilógrafo es deformada al atravesar dicho estímulo rectangular unas soluciones electrolíticas separadas por una membrana viva, la córnea.

El estudio de esas deformaciones de la onda, producidas por los distintos

electrolitos (anestésicos locales), para poder deducir el distinto grado de permeabilidad de la córnea a ellos, es el objeto de este trabajo.

Las córneas son excindidas inmediatamente antes de comenzada cada experiencia y colocadas en el dispositivo "ad hoc", en cuyas dos cámaras situamos: en la de "fuera", en contacto con el epitelio corneal, solución 0'1 molar de ClNa y 1000 gammas del anestésico a estudiar. En la de "dentro", en contacto con el endotelio, ponemos Ringer Rana.

Cl Na 0'1 molar 1000 gammas de anest. local	CORNEA	Solución Ringer

El nivel superior de estas soluciones coincidiendo en ambas cubetas, para eliminar la influencia de la presión hidrostática, su concentración electrolítica lo más cercana posible a las condiciones fisiológicas de los líquidos que bañan la córnea.

Los electrodos siempre el negativo "fuera" y el positivo "dentro". A la misma profundidad y distancia de córnea.

Después de diversos ensayos hemos llegado a obtener y dejar fijos para todas las experiencias unos datos de medida en los mandos de los aparatos:

ESTIMULADOR	Frecuencia A	Dial 5'5
	Duración 1	Dial 9
	Voltaje 0'1	Dial 8
	Estímulo: Repetido y Directo.	
OSCILOGRAFO	Mando horizontal	2'5
	Mando vertical	8'5
	Brillancia	7'5
	Sincronización	5'5
	Amplitud	10
	Reglaje Frecuencia	9'5
	Amplitud vertical	10

En estas circunstancias, con estos datos de los aparatos, el "Stimulator" nos envía sobre la pantalla del Oscilógrafo un estímulo cuadrado:

Cuyas características son:

Frecuencia	1000	p. s.
Voltaje	30	mV.
Duración	3'5	m. s.

Este estímulo cuadrado sufre una desfasación, deformación o aplanamiento, principalmente en sus ángulos superior izquierdo e inferior derecho cuando atraviesa por intermedio de los electrodos un dieléctrico, en este caso constituído por dos soluciones electrolíticas y una membrana viva, quedando representada en la pantalla del Oscilógrafo la "onda cuadrada":

Supuestos constantes la concentración iónica, presión osmótica, etc., del dieléctrico, el material, separación, tamaño de los electrodos y la frecuencia,

duración y voltaje del estímulo, únicamente es imputable las modificaciones que vaya sufriendo la onda a la solución situada en la cubeta de "exterior", que es donde vamos a ir cambiando en cada experiencia el soluto, anestésico local y siempre en igual valoración: 1000 gammas de producto.

Las modificaciones de onda se producen durante la primera hora de actuación del estímulo, por lo que con tres fotografías registramos todo el proceso:

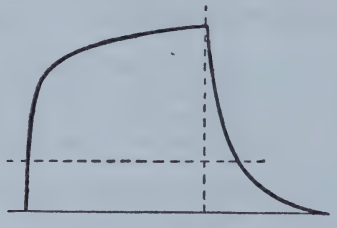
La 1.ª testigo, al comienzo de la prueba.

La 2.ª, a la 1/2 hora siguiente.

Y la 3.ª, al final, es decir, a la hora.

Para disminuir, en lo posible, los errores, hemos hecho en todos los experimentos las fotos con la misma técnica: una sola máquina, la misma sensibilidad de película, brillo de la pantalla y del grosor de trazo de onda, distancia máquina-pantalla, lentes de aproximación, exposición 1/2 segundo.

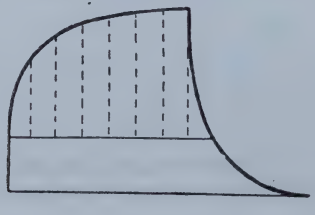
Las fotografías así obtenidas de las ondas, que creemos es el proceder más práctico y asequible de poder seguir el curso del transporte iónico a través de la córnea, son ampliadas (Ampliadora E. Leit) cuatro diámetros, para su más fácil estudio:



Este estudio o análisis de cada onda lo hemos hecho determinando su superficie en milímetros cuadrados y para simplificar el cálculo se prescinde de una zona de 1 cm. de ancha, paralela al barrido de la onda y también se ha levantado una perpendicular a 3'4 cm. del barrido inicial (cifra media que corresponde a la perpendicular que pasa por el ángulo superior derecho de la onda), reservándonos, como se ve en la anterior gráfica, la superficie de onda comprendida entre esas dos líneas, es decir, el ángulo superior izquierdo, donde precisamente se manifiesta más el aplanamiento del estímulo rectangular.

El cálculo de la superficie de la onda así preparada lo hemos verificado planimétricamente (Planímetro de R. Reiss) con tres tomas consecutivas de cada una y sacando la media aritmética o promedio, estando comprendidos los datos para todas las ondas entre 700 y 800 mm².

También se puede hacer el análisis matemático de las ondas para calcular su área (Pedraz J.) levantando perpendiculares, cada 0'5 cm. a la paralela al barrido, con lo que se divide la superficie a determinar en numerosos restángulos, uno de cuyos lados es la curva parabólica de la onda:



Y así, conociendo los valores de las abscisas y ordenadas, se establece un sistema de ecuaciones de mínimos cuadrados con tres incógnitas:

$$N a_0 + \overline{Z}\, x\, a_1 \pm \overline{Z}\, x^2\, a_2 = \overline{Z}\, y$$
$$\overline{Z}\, x\, a_0 + \overline{Z}\, x^2\, a_1 + \overline{Z}\, x^3\, a_2 = \overline{Z}\, x\, y$$
$$\overline{Z}\, x^2\, a_0 + \overline{Z}\, x^3\, a_1 + \overline{Z}\, x^4\, a_2 = \overline{Z}\, y\, x^2$$

En estas ecuaciones los valores conocidos son: x = abscisa de cada uno de los rectángulos (0'5 cm.) representa duración de estímulo.
y = ordenada, otro lado de cada restángulo, voltaje del estímulo.
N = número de valores tomados.
$\overline{Z}$ = signo convencional, representa suma.

Las incógnitas son: a_0, a_1 y a_2.

Resolviendo este sistema de tres ecuaciones con tres incógnitas obtiene unos valores que integrados debidamente proporcionan el área de cada una de las ondas a analizar.

En nuestro trabajo hemos verificado 10 experimentos para cada anestésico local estudiado, en total 11 productos. En cada experimento, como hemos señalado, se han hecho tres determinaciones, al comienzo, a la media hora y a la hora.

Como las investigaciones científicas han de desarrollarse conforme a un plan que responda a las necesidades de un estudio estadístico hemos hallado el promedio o media aritmética de cada serie de ensayos aplicando la fórmula:

$$\overline{X} = \frac{1}{N} S\,(x)$$

S (x) = Suma de valores individuales
N = Número total de estos valores individuales
$\overline{X}$ = Es el tanteo.

También, para corroborar estos datos, hemos procedido a determinar y queda consignado igualmente en el protocolo de resultados, la desviación standard a desviación tipo, más necesaria aún que la anterior, por ser más precisa en todo estudio estadístico de series de pruebas de investigación biológica.

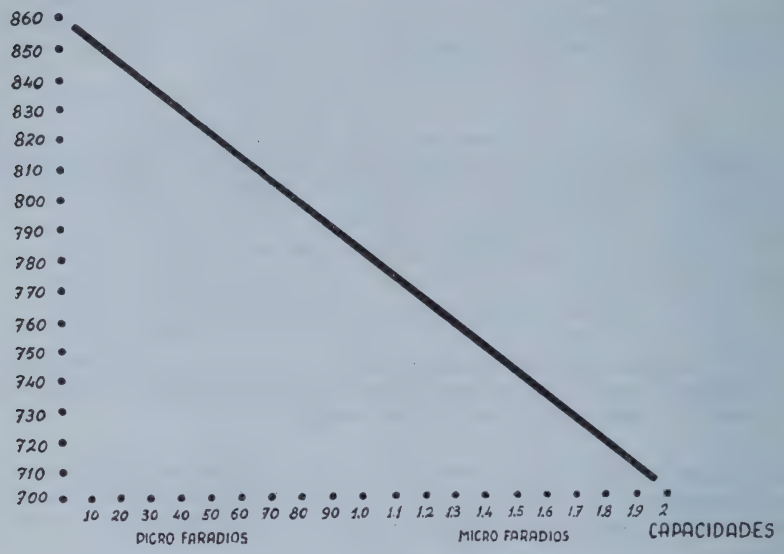
Aplicando la conocida fórmula de dispersión:

$$\sigma^2 = \frac{1}{N-1} S\,(x - X)^2 \text{ de donde } \sigma = \frac{S\,(x - \overline{X})^2}{N-1}$$

En cuya fórmula S $(x - X)^2$ es la suma de todos los cuadrados de las desviaciones (calculados a partir del promedio). (Documenta Geigy 1951).

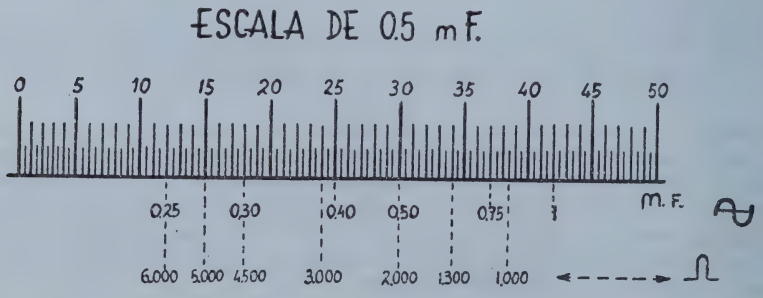
Conocidas ya las superficies de las ondas y el promedio de las 10 pruebas de cada serie, en cada uno de los anestésicos estudiados, además de una serie dedicada al Oxígeno, como prueba testigo, empleando la misma técnica de montaje, los mismos líquidos y su correspondiente córnea separándolos, pero sin anestésico local en la cubeta de "exterior", sino exclusivamente Oxígeno en las dos, procedemos entonces ya a traducir en unidades eléctricas de capacidad esa superficie en mm.^{2} de la onda.

Para saber qué capacidad en pico o en micro-Faradios corresponde a una determinada superficie en mm.² recurrimos a la gráfica adjunta:



En la que figuran en la ordenada la superficie en mm.² de 10 en 10, desde 700 hasta 860 mm., límites en los que están comprendidas todas las superficies manejadas en estas pruebas. Y en la línea de abscisa las capacidades dadas en pico o micro-Faradios según sea mayor o menor, respectivamente, la superficie a determinar. Esta gráfica ha sido obtenida después de repetidas pruebas intercalando capacidades progresivas bien determinadas, de 10.000 en 10.000 pico-Faradios, con una resistencia común de 1.500 ohmios, anotando las variaciones de superficie que se producían, en mm.², en cada deformación de onda en la pantalla fluorescente del Oscilógrafo.

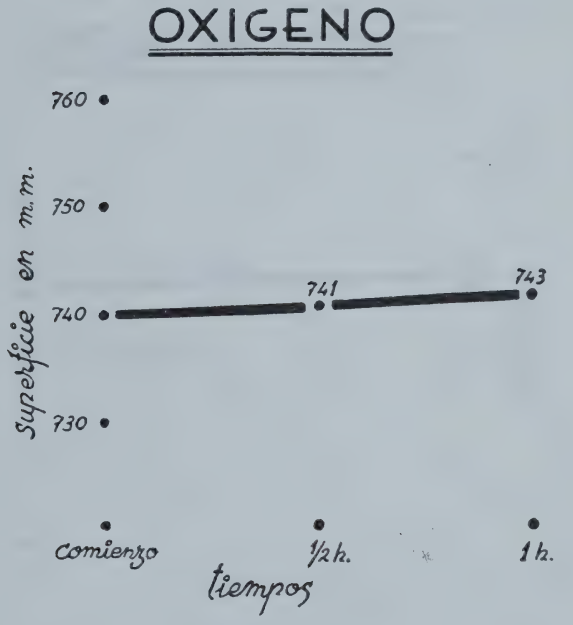
Simultáneamente hemos comprobado las variaciones de la capacidad eléctrica entre el comienzo y final de cada experimento por otro proceder: Sirviéndonos de un Micro-amperímetro, que se puede considerar como un Capacitómetro. Dicho aparato está construído con condensadores y resistencias conocidas y nos proporciona directamente datos en su escala que confrontamos en la gráfica correspondiente anexa al aparato, gráfica que reproducimos a continuación, nos da la capacidad correspondiente en micro-Faradios.



Como se ve en el protocolo de resultados, donde hacemos constar además de los datos de capacidad obtenidos por el procedimiento base del experimento, los obtenidos por este otro, son sensiblemente iguales.

O X I G E N O

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios de las 10 pruebas	740	741	743
Desviación media Standard	1'56	2'33	1'11
Capacidades en micro-Faradios	1'51		1'47
Diferencia entre comienzo y final		0'04 mF.	



Datos del Micro-amperímetro

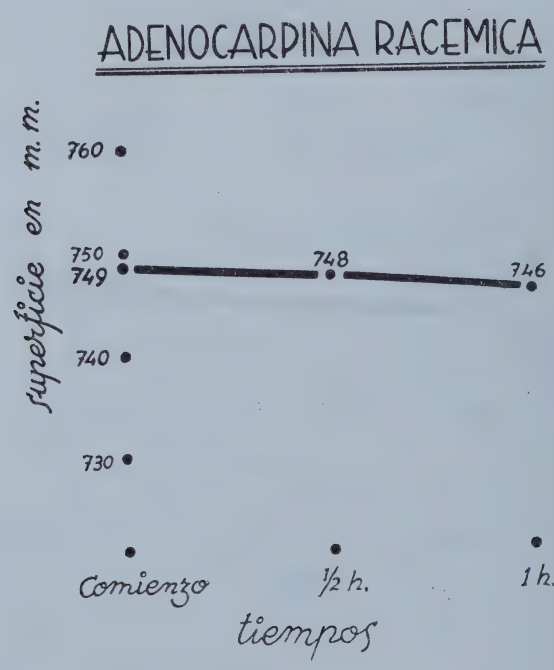
	Comienzo		*Final*
Promedios	18		12
Capacidades en micro-Faradios	0'30		0'25
Diferencia		0'05 mF.	

ADENOCARPINA
(Racémica)

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	749	748	746
Desviación media Standard	2'35	1'5	1'41
Capacidades en micro-Faradios	1'40		1'43
Diferencia entre comienzo y final		0'03 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	11		13
Capacidades en micro-Faradios	0'20		0'24
Diferencia		0'04 mF.	



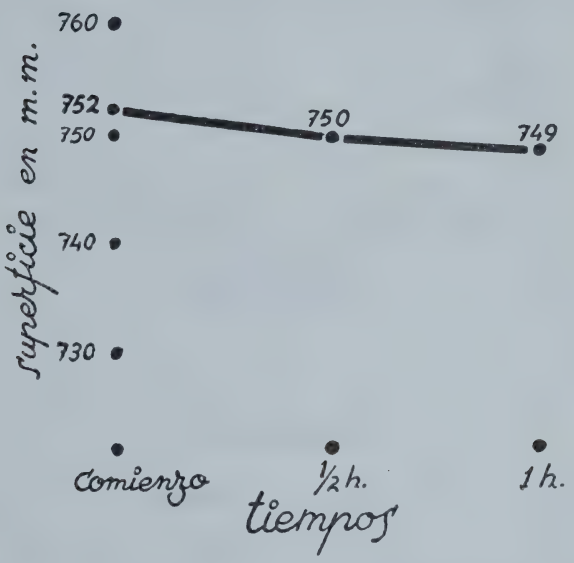
ADENOCARPINA
(Fen.-Acet.)

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	752	750	749
Desviación media Standard	1'69	1'88	1'94
Capacidades en micro-Faradios	1'37		1'40
Diferencia		0'03 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	12		15
Capacidades en micro-Faradios	0'25		0'27
Diferencia		0'024 mF.	

ADENOCARPINA (FEN-ACET)

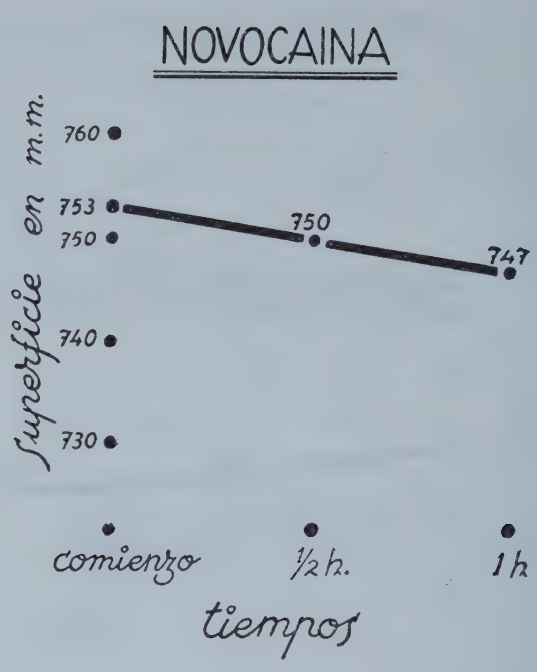


NOVOCAINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	753	750	747
Desviación media Standard	1'41	1'41	1'11
Capacidades en micro-Faradios	1'35		1'43
Diferencia entre comienzo y final		0'08 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	12		20
Capacidades en micro-Faradios	0'25		0'33
Diferencia		0'08 mF.	

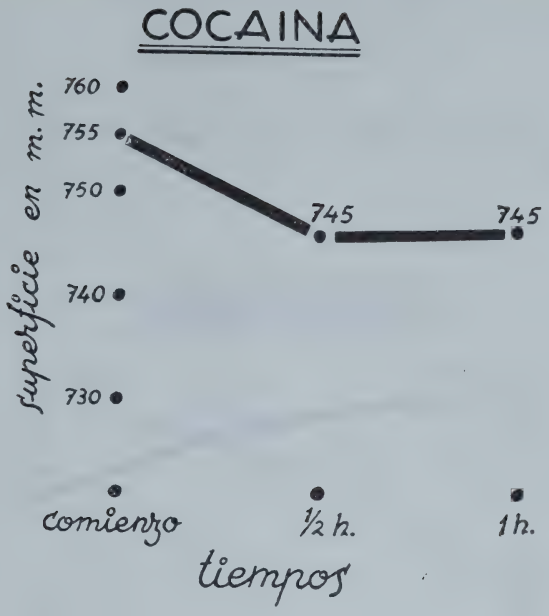


COCAINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	755	745	745
Desviación media Standard	2'05	3'12	2'58
Capacidades en micro-Faradios	1'33		1'45
Diferencias entre comienzo y final		0'12 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	25		30
Capacidades en micro-Faradios	0'40		0'50
Diferencia		0'10 mF.	

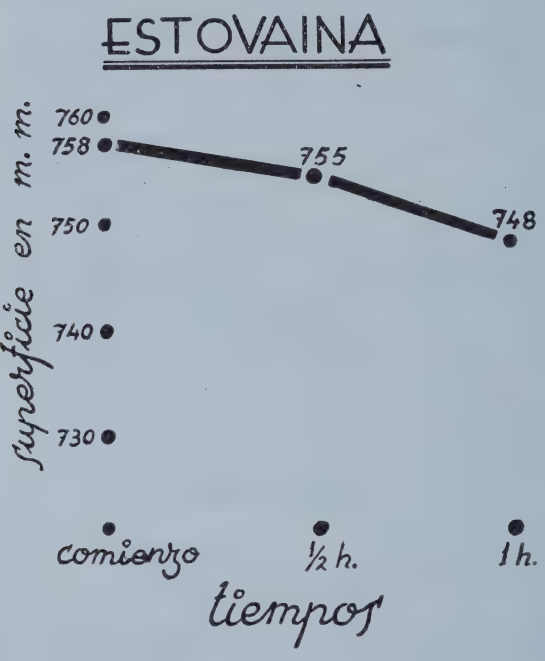


ESTOVAINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	758	755	748
Desviación media Standard	1'05	2'02	1'75
Capacidades en micro-Faradios	1'29		1'41
Diferencia entre comienzo y final		0'12 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	18		26
Capacidades en micro-Faradios	0'30		0'42
Diferencia		0'12 mF.	



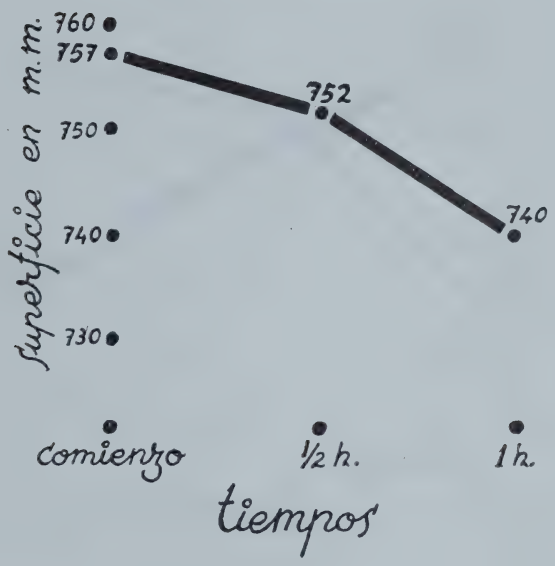
TUTOCAINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	757	752	740
Desviación media Standard	1'82	1'48	1'48
Capacidades en micro-Faradios	1'30		1'51
Diferencia entre comienzo y final		0'21 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	25		33
Capacidades en micro-Faradios	0'40		0,62
Diferencia		0'22 mF.	

TUTOCAINA



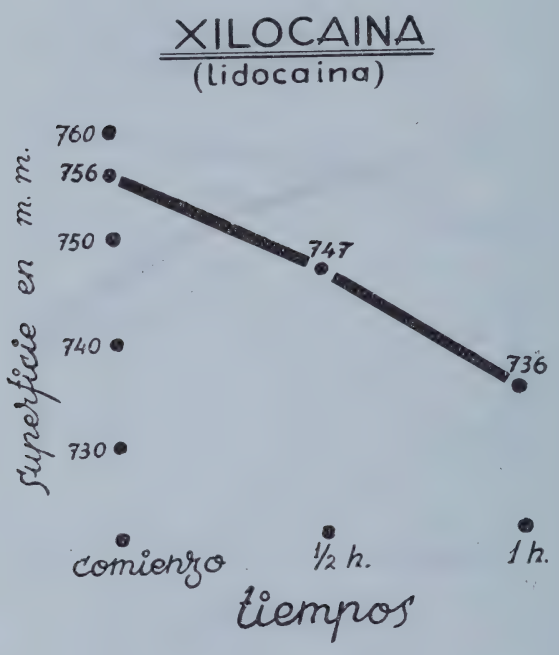
XILOCAINA

(Lidocaína)

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	756	747	736
Desviación media Standard	1'69	1'41	1'63
Capacidades en micro-Faradios	1'32		1'56
Diferencia entre comienzo y final		0'24 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	14		30
Capacidades en micro-Faradios	0'266		0'500
Diferencia		0'234 mF.	

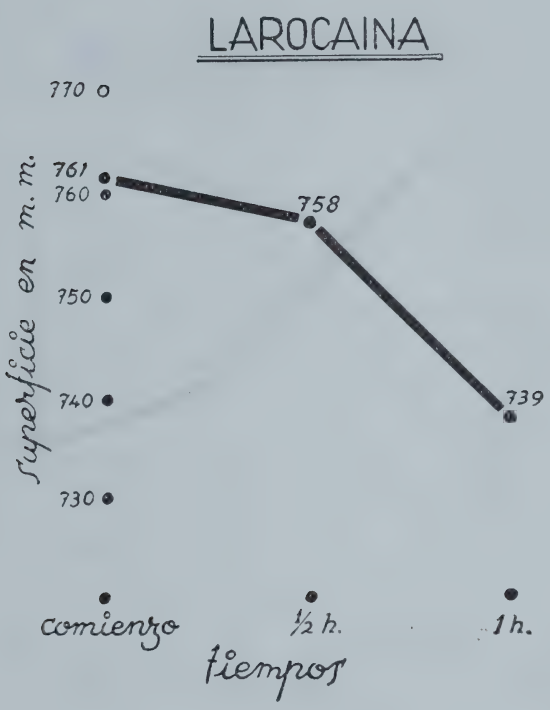


LAROCAINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	761	758	739
Desviación media Standard	1'10	1'28	2
Capacidades en micro-Faradios	1'26		1'52
Diferencia entre comienzo y final		0'26 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	18		32
Capacidades en micro-Faradios	0'30		0'58
Diferencia		0'28 mF.	



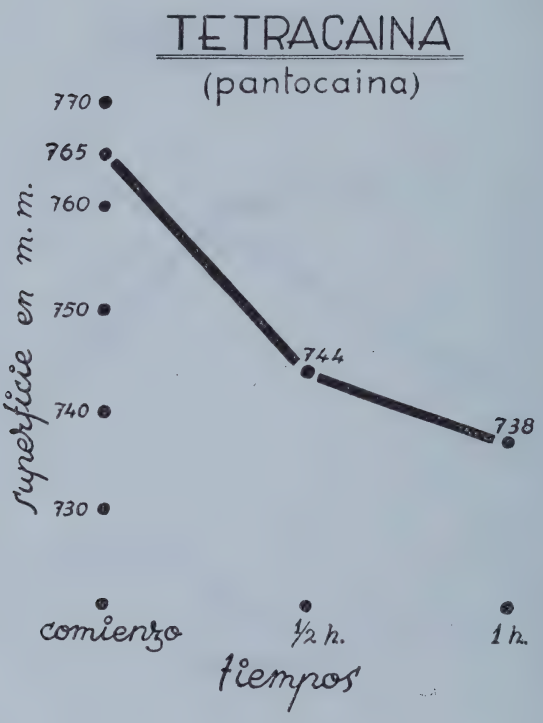
TETRACAINA

(Pantocaína)

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	765	744	738
Desviación media Standard	2'47	1'82	1'15
Capacidades en micro-Faradios	1'21		1'52
Diferencia entre comienzo y final		0'31 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	27		37
Capacidades en micro-Faradios	0'42		0'75
Diferencia		0'33 mF.	

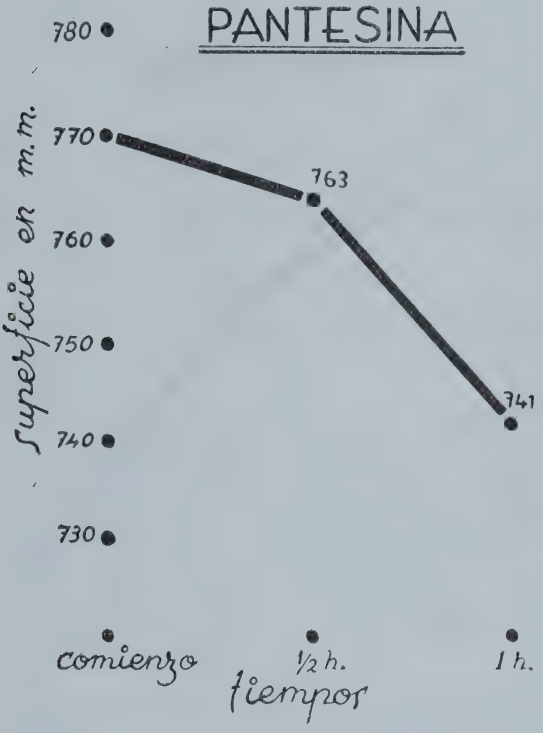


PANTESINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	770	763	741
Desviación media Standard	2'40	2'05	2'26
Capacidades en micro-Faradios	1'15		1'50
Diferencia entre comienzo y final		0'35 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	12		33
Capacidades en micro-Faradios	0'25		0'62
Diferencia		0'37 mF.	

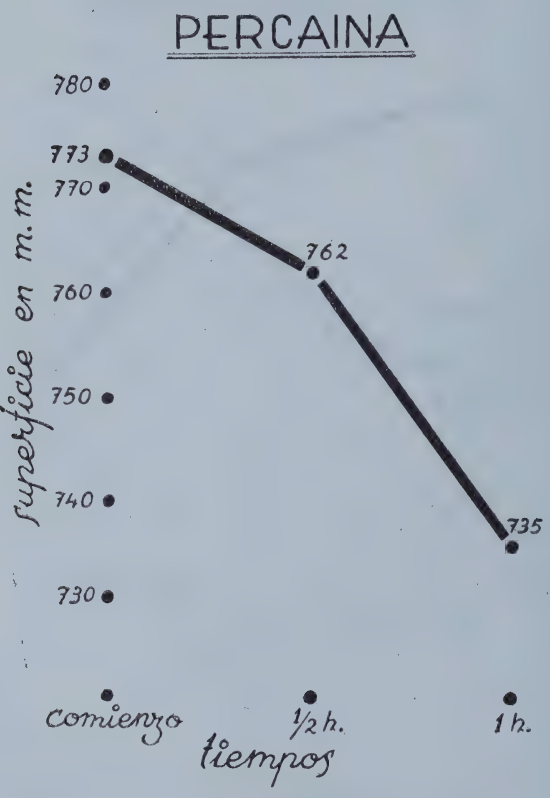


PERCAINA

	Comienzo	*1/2 H.*	*1 H.*
Promedios	773	762	735
Desviación media Standard	1'59	1'66	2
Capacidades en micro-Faradios	1'11		1'56
Diferencia entre comienzo y final		0'45 mF.	

Datos del Micro-amperímetro

	Comienzo		*Final*
Promedios	12		35
Capacidades en micro-Faradios	0'25		0'72
Diferencia		0'47 mF.	



DISCUSION

Al interpretar los resultados de nuestras experiencias, deducimos que todo estímulo eléctrico que atraviesa un objeto biológico a través de un dieléctrico, sufre una transformación porque existe una resistencia al paso de ese estímulo y al mismo tiempo también existe una capacidad en ese conductor: dieléctrico-córnea dieléctrico.

Al disminuir la resistencia aumenta la capacidad y viceversa al aumentar la resistencia disminuye la capacidad de un conductor. Este es un principio de electrotecnia que se prueba también con nuestra experiencia al sustituir el conductor (sol. electrolítica-córnea-sol. electrolítica) por resistencias y condensadores conocidos.

La capacidad de un electrolito aumenta en íntima relación con la concentración iónica y precisamente con la concentración iónica en el polo positivo, ya que al sustituir el electrolito del polo positivo por agua destilada, continuando en el negativo su solución electrolítica correspondiente, no se produce deformación de onda en un principio, sino más tarde cuando los iones adquieren cierta concentración en dicho polo positivo.

La mayor deformación de onda, el mayor aplanamiento, se traduce por una disminución de la superficie de esa onda, es decir, al disminuir la resistencia y aumentar paralelamente la capacidad, aumenta también la conductividad de la córnea y en consecuencia la onda se deforma más, su superficie es menor.

Por el contrario el menor aplanamiento o deformación de onda, que da lugar a mayor superficie de onda, revela una mayor resistencia y consecuentemente una menor capacidad y conductividad eléctrica.

Concretando: Disminución de la superficie de onda indica mayor deformación del estímulo cuadrado, disminución de la resistencia y aumento de la capacidad. Inversamente, el aumento de la superficie de onda representa menor deformación del estímulo, aumento de resistencia y disminución de la capacidad.

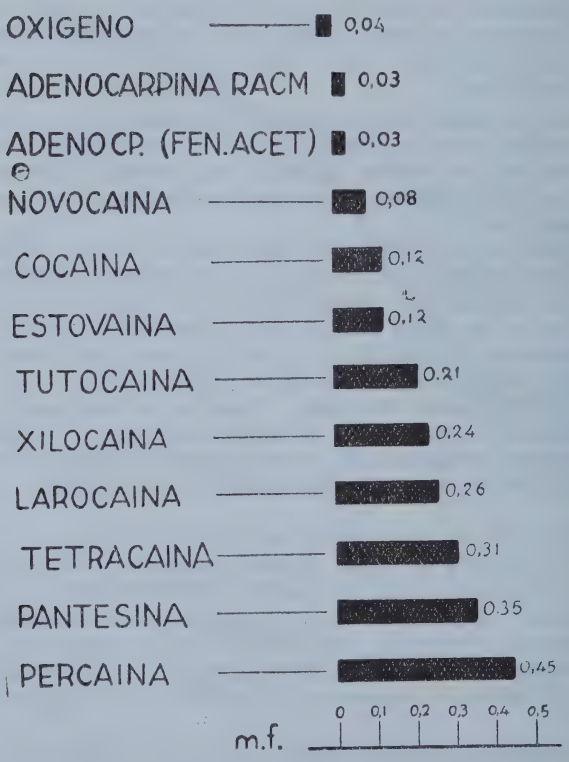
La deformación del estímulo rectangular, que recogemos en nuestro trabajo, medida en mm.^{2} de superficie, se traduce en variaciones de capacidad, que determinamos y que como dependen de las variaciones de concentración en el polo positivo, nos ponen de manifiesto un arrastre o transporte iónico desde la cubeta donde está el electrodo negativo hacia la cubeta donde está el positivo, es decir, el transporte iónico desde "el exterior" hacia el humor acuoso a través de la córnea.

Al determinar por el método expuesto la diferencia de capacidad entre comienzo y final de cada prueba, determinamos indirectamente la resistencia

de la córnea a ese transporte iónico, que sigue un curso inversamente proporcional a las variaciones de la capacidad. Esta relación entre resistencia y capacidad es lo que se viene llamando *Impedancia.* Y si bien ciertos investigadores, concretamente Cogan y su escuela, prescindieron en sus estudios de los datos de variación de capacidades y llegaron a determinar la impedancia de la córnea siguiendo las variaciones de la resistencia, determinada en ohmios, nosotros con nuestro proceder llegamos a conocer indirectamente dicha impedancia al determinar las variaciones de capacidad eléctrica, expresada en micro-Faradios.

Al estudiar los resultados obtenidos apreciamos que en la primera serie, en que no utilizamos anestésico alguno, sino solamente OXIGENO, la diferencia de capacidad entre comienzo y final es de —0'04 mF., que indica una movilidad iónica inapreciable y en sentido inverso.

En cuanto a la ADENOCARPINA, racemica y el fenil-acetato, se observa un transporte iónico exiguo pero de "fuera" a "dentro", ya que la capacidad varía en + 0'03 mM. La NOVOCAINA, con + 0'08 mF. revela un discreto trans-



porte iónico. La COCAINA, es la más rápida en su paso a través de la córnea, ya que toda la deformación de onda que consigue lo hace en la primera fase de la observación para estabilizarse en el segundo medio tiempo, de lo que inferimos es el anestésico que más rápidamente manifiesta sus efectos, aunque no con tanta intensidad como otros. La ESTOVAINA, de intensidad igual a la de la cocaína, + 0'12 mF., pero más lenta. La TUTOCAINA presenta una diferencia de capacidad entre comienzo y final de + 0'21 mF., atraviesa, pues,

más fácilmente la córnea que las anteriores. La XILOCAINA de arrastre iónico muy regular a todo lo largo del período de observación, con —0'24 mF. de capacidad. La LAROCAINA manifiesta más movilidad en la segunda mitad del tiempo de observación, es decir, de acción menos rápida, con + 0'26 mF.

La TETRACAINA, PANTESINA y PERCAINA son las que mayor capacidad eléctrica revelan: + 0'31, + 0'35 y + 0'45 mF. respectivamente. La primera alcanza casi toda su intensidad en la primera fase. No así la pantesina y percaína que manifiestan más actividad en el segundo medio tiempo, son lentas en su acción, pero las más activas.

CONCLUSIONES

PRIMERA.—Todo estímulo eléctrico cuadrado o restangular que atraviesa un objeto biológico, en este caso córnea de ganado vacuno, a través de unas soluciones electrolíticas, sufre una deformación, porque existe una resistencia y una capacidad en ese conductor constituído así: Dieléctrico-córnea-dieléctrico.

SEGUNDA.—El análisis de la onda cuadrada deformada por el transporte iónico a través de la córnea proporciona datos de capacidad eléctrica que nos permiten deducir su resistencia y consecuentemente su impedancia (conjunto de resistencia y capacidad), para los distintos anestésicos que se estudian.

TERCERA.—La permeabilidad de la córnea a estos anestésicos locales, referida a los datos obtenidos en el caso de la Cocaína clorhidrato, que se toma como unidad, sigue el orden decreciente siguiente:

Percaína	3'75
Pantesina	2'91
Tetracaína	2'58
Larocaína	2'16
Xilocaína	2
Tutocaína	1'75
Estovaína	1
Cocaína	1
Novocaína	0'66
Adenocarpina	0'25

CUARTA.—La permeabilidad corneal a la percaína y pantesina es la más intensa de todos los anestésicos locales estudiados y esta permeabilidad es mayor en la segunda fase del tiempo de contacto con la córnea, de lo que se puede deducir que su acción es más lenta en manifestarse que en el caso de otros anestésicos.

QUINTA.—La tetracaína atraviesa la córnea en su mayor parte en la primera fase, es decir, es de acción más rápida, pero no tan intensa como las anteriores, aunque lo es bastante si se la compara con las siguientes.

SEXTA.—Sigue en valor la Larocaína, con respecto a su poder de permeabilizar la córnea y lo es más en la segunda fase, o sea, es de acción no rápida, lenta.

SEPTIMA.—La permeabilidad para la cocaína se verifica en su totalidad en la primera mitad del tiempo de observación, manteniéndose el resto del tiempo al mismo nivel, lo que indica que rápidamente, antes que los demás anestésicos locales, manifiesta su acción.

OCTAVA.—Para la Xilocaína y Tutocaína la permeabilidad corneal es muy aproximada y bastante uniforme y regular durante todo el tiempo que dura la experiencia.

NOVENA.—En cuanto a la Estovaína la córnea presenta una permeabilidad similar a la de la Cocaína, aunque más lenta que para ésta.

DECIMA.—La permeabilidad para la Novocaína es muy reducida, por lo que su acción como anestésico local de contacto puede considerarse muy deficiente.

UNDECIMA.—Igualmente la permeabilidad para las adenocarpinas, racemica y el fenil acetato, es muy pequeña, por lo que tampoco son aconsejables como anestésicos locales de superficie.

DUODECIMA.—La interdependencia que se manifiesta entre la deformación de la onda cuadrada como exponente de la permeabilidad corneal a los electrólitos y la actividad como anestésicos de superficie de los fármacos utilizados ponen en evidencia que existe una relación directa entre velocidad de penetración a través de la córnea e intensidad de su acción anestésica local.

DECIMOTERCERA.—Este estudio experimental con córnea excindida y líquidos preparados, aunque no nos proporciona seguridad absoluta de haber sido estudiada la permeabilidad de la córnea fisiológicamente, puesto que para ello hubiera sido necesario hacerlo "in situ", en el ambiente metabólico y tisular que la rodea, si puede contribuir, es nuestro propósito, a progresar en su conocimiento.

RESUMEN

Se hace un estudio experimental con córnea de buey excindida y líquidos preparados, como dieléctricos, sobre la permeabilidad iónica de la córnea a distintos anestésicos locales.

Se calculan las variaciones de la capacidad eléctrica, como exponente de la impedancia de la córnea a esos fármacos, en función de las modificaciones que sufre un estímulo rectangular que produce en la pantalla osciloscópica una "onda cuadrada".

Como conclusión se admite que la permeabilidad de la córnea para esos anestésicos locales sigue el orden decreciente siguiente: Percaína, Pantesina, Tetracaína, Larocaína, Xilocaína, Tutocaína, Estovaína, Cocaína, Novocaína y Adenocarpina.

BIBLIOGRAFIA

ANTONIBON.—"Ann. di Ottal. e Clin. Ocul.", 57 1929.
BAHR V. G.—"Acta Ophtal.", 19, 125 1941.
BAYO y BAYO J. M.—"Arch. del Inst. de Farm. Expm.", Madrid. 156, I y II. 1953.
COGAN D., HOLT M.—"Arch. of Opht.", vol. XXXV, núm. 3, 292 1946.
DAVSON H.—"The phisiology of the eye". Ed. Churchill, London. 1949.
ESCUDERI G.—"La permeabilità corneale". Ed. Min. Med. Torino. 1950.
FAVALORO.—"La fisiolg. del fogl. Desc.-endot. 38.° Congre. Soc. Ital." 1949.
FISCHER F. P.—"Klin Monat. f. Augen", 86, 298 1931.
GALLENGA R.—"Arch. Scien. Biel.", 9, 212 1926.
GASPARRO U.—"Rass. Ital. di Ottalm.", 3, 563 1934.
GRASSO A.—"Atti. 36.° Congr. Soc. Oft.", 348, 1947.
HART W.—"Arch. of Opht.", 37, 692 1947.
HOEFE V.—"Klin. Mon. f. Augen", 103, 242 1939.
IWAI M.—"Acta Soc. Opht. Jap.", 42, 101 1938.
KLEIN M.—"Brit. Jour. of Opht.", 22, 401 1938.
KOSTER W.—"Graef. Arch. f. Opht.", 51, 301 1900.
KRAUSE A.—"Amer. Jour. of Opht.", 16, 214 1933.
LEBER T.—"Graef. Arch.", 19, 87 1873.
MAGITOT A.—"Phys. Ocul. Clin." Ed. Masson. 1946.
MESTREZAT W., GIRARD P. y MORAX V.—"Soc. Biologie". 1922.
NAKAMURA B.—"Arch. Mon. f. Augen", 70, 159 1923.
PEDRAZ J.—Tesis doct. Salamanca. 1958.
REDSLOB E.—"Ann d'Ocul.", 170, 415 1933.
RIDLEY F.—"Tr. Opht. Soc. U. K.", 50, 268 1930.
RÍOS SASIAIN y TOLEDANO.—"Arch. de la S. O. H.-A.", 380 1950.
SIMÓN.—"Arch. Inter. de Fharm. e Ther.", 1, 180 1935.
SWAN K. C. y WHITE N. G.—"Amer. Jour. of Opht.", vol. XXV, 1043, Sembr. 1949.

CUADERNOS DE HISTORIA DE LA MEDICINA ESPAÑOLA

Publicados por el Seminario de Historia de la Medicina de la Universidad de Salamanca. Han aparecido los vols. I (1962) y II (1963).

Anejo I: *Anatomía de la Ilustración.*

* * *

Ultimas publicaciones editadas por la Universidad de Salamanca:

ACTA SALMANTICENSIA

CIENCIAS

Tomo VI, núm. 2. *Extractos de Tesis Doctorales.*

MEDICINA

Tomo VII, núm. 2. LUIS SANTOS GUTIÉRREZ: *En torno al rigor en las descripciones morfológicas.*

HISTORIA DE LA UNIVERSIDAD

Tomo II-III: L. SALA BALUST, *Constituciones, Estatutos y ceremonias de los antiguos Colegios Seculares de la Universidad de Salamanca, Edición crítica,* I: 1962; II: 1963.

SECRETARIADO DE PUBLICACIONES E INTERCAMBIO
CIENTIFICO DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
APARTADO 20 - SALAMANCA